This is a digital copy of a book that was preserved for generations on library shelves before it was carefully scanned by Google as part of a project to make the world's books discoverable online.

It has survived long enough for the copyright to expire and the book to enter the public domain. A public domain book is one that was never subject to copyright or whose legal copyright term has expired. Whether a book is in the public domain may vary country to country. Public domain books are our gateways to the past, representing a wealth of history, culture and knowledge that's often difficult to discover.

Marks, notations and other marginalia present in the original volume will appear in this file - a reminder of this book's long journey from the publisher to a library and finally to you.

Usage guidelines

Google is proud to partner with libraries to digitize public domain materials and make them widely accessible. Public domain books belong to the public and we are merely their custodians. Nevertheless, this work is expensive, so in order to keep providing this resource, we have taken steps to prevent abuse by commercial parties, including placing technical restrictions on automated querying.

We also ask that you:

+ *Make non-commercial use of the files* We designed Google Book Search for use by individuals, and we request that you use these files for personal, non-commercial purposes.
+ *Refrain from automated querying* Do not send automated queries of any sort to Google's system: If you are conducting research on machine translation, optical character recognition or other areas where access to a large amount of text is helpful, please contact us. We encourage the use of public domain materials for these purposes and may be able to help.
+ *Maintain attribution* The Google "watermark" you see on each file is essential for informing people about this project and helping them find additional materials through Google Book Search. Please do not remove it.
+ *Keep it legal* Whatever your use, remember that you are responsible for ensuring that what you are doing is legal. Do not assume that just because we believe a book is in the public domain for users in the United States, that the work is also in the public domain for users in other countries. Whether a book is still in copyright varies from country to country, and we can't offer guidance on whether any specific use of any specific book is allowed. Please do not assume that a book's appearance in Google Book Search means it can be used in any manner anywhere in the world. Copyright infringement liability can be quite severe.

About Google Book Search

Google's mission is to organize the world's information and to make it universally accessible and useful. Google Book Search helps readers discover the world's books while helping authors and publishers reach new audiences. You can search through the full text of this book on the web at `http://books.google.com/`

A propos de ce livre

Ceci est une copie numérique d'un ouvrage conservé depuis des générations dans les rayonnages d'une bibliothèque avant d'être numérisé avec précaution par Google dans le cadre d'un projet visant à permettre aux internautes de découvrir l'ensemble du patrimoine littéraire mondial en ligne.

Ce livre étant relativement ancien, il n'est plus protégé par la loi sur les droits d'auteur et appartient à présent au domaine public. L'expression "appartenir au domaine public" signifie que le livre en question n'a jamais été soumis aux droits d'auteur ou que ses droits légaux sont arrivés à expiration. Les conditions requises pour qu'un livre tombe dans le domaine public peuvent varier d'un pays à l'autre. Les livres libres de droit sont autant de liens avec le passé. Ils sont les témoins de la richesse de notre histoire, de notre patrimoine culturel et de la connaissance humaine et sont trop souvent difficilement accessibles au public.

Les notes de bas de page et autres annotations en marge du texte présentes dans le volume original sont reprises dans ce fichier, comme un souvenir du long chemin parcouru par l'ouvrage depuis la maison d'édition en passant par la bibliothèque pour finalement se retrouver entre vos mains.

Consignes d'utilisation

Google est fier de travailler en partenariat avec des bibliothèques à la numérisation des ouvrages appartenant au domaine public et de les rendre ainsi accessibles à tous. Ces livres sont en effet la propriété de tous et de toutes et nous sommes tout simplement les gardiens de ce patrimoine. Il s'agit toutefois d'un projet coûteux. Par conséquent et en vue de poursuivre la diffusion de ces ressources inépuisables, nous avons pris les dispositions nécessaires afin de prévenir les éventuels abus auxquels pourraient se livrer des sites marchands tiers, notamment en instaurant des contraintes techniques relatives aux requêtes automatisées.

Nous vous demandons également de:

+ *Ne pas utiliser les fichiers à des fins commerciales* Nous avons conçu le programme Google Recherche de Livres à l'usage des particuliers. Nous vous demandons donc d'utiliser uniquement ces fichiers à des fins personnelles. Ils ne sauraient en effet être employés dans un quelconque but commercial.

+ *Ne pas procéder à des requêtes automatisées* N'envoyez aucune requête automatisée quelle qu'elle soit au système Google. Si vous effectuez des recherches concernant les logiciels de traduction, la reconnaissance optique de caractères ou tout autre domaine nécessitant de disposer d'importantes quantités de texte, n'hésitez pas à nous contacter. Nous encourageons pour la réalisation de ce type de travaux l'utilisation des ouvrages et documents appartenant au domaine public et serions heureux de vous être utile.

+ *Ne pas supprimer l'attribution* Le filigrane Google contenu dans chaque fichier est indispensable pour informer les internautes de notre projet et leur permettre d'accéder à davantage de documents par l'intermédiaire du Programme Google Recherche de Livres. Ne le supprimez en aucun cas.

+ *Rester dans la légalité* Quelle que soit l'utilisation que vous comptez faire des fichiers, n'oubliez pas qu'il est de votre responsabilité de veiller à respecter la loi. Si un ouvrage appartient au domaine public américain, n'en déduisez pas pour autant qu'il en va de même dans les autres pays. La durée légale des droits d'auteur d'un livre varie d'un pays à l'autre. Nous ne sommes donc pas en mesure de répertorier les ouvrages dont l'utilisation est autorisée et ceux dont elle ne l'est pas. Ne croyez pas que le simple fait d'afficher un livre sur Google Recherche de Livres signifie que celui-ci peut être utilisé de quelque façon que ce soit dans le monde entier. La condamnation à laquelle vous vous exposeriez en cas de violation des droits d'auteur peut être sévère.

À propos du service Google Recherche de Livres

En favorisant la recherche et l'accès à un nombre croissant de livres disponibles dans de nombreuses langues, dont le français, Google souhaite contribuer à promouvoir la diversité culturelle grâce à Google Recherche de Livres. En effet, le Programme Google Recherche de Livres permet aux internautes de découvrir le patrimoine littéraire mondial, tout en aidant les auteurs et les éditeurs à élargir leur public. Vous pouvez effectuer des recherches en ligne dans le texte intégral de cet ouvrage à l'adresse `http://books.google.com`

M. ARTHUS

PRÉCIS DE PHYSIOLOGIE MICROBIENNE

COLLECTION DE PRÉCIS MÉDICAUX
MASSON & Cie ÉDITEURS, PARIS
1921

Ex-libris
Charles Atwood
Kofoid

THE LIBRARY
OF
THE UNIVERSITY
OF CALIFORNIA

PRESENTED BY
PROF. CHARLES A. KOFOID AND
MRS. PRUDENCE W. KOFOID

Collection de Précis Médicaux

Cette collection s'adresse aux étudiants pour la préparation aux examens, et à tous les praticiens qui, à côté des grands traités, ont besoin d'ouvrages concis, mais vraiment scientifiques, qui les tiennent au courant. D'un format maniable, brochés ou cartonnés en toile anglaise souple, ces livres sont très abondamment illustrés.

Volumes en vente au 1er Décembre 1921 :

Introduction à l'étude de la Médecine, par G.-H. Roger, professeur à la Faculté de Paris. *7e édition remaniée.* 812 pages. Br. 22 fr.
Cartonné. . . . . 25 fr.

Anatomie et Dissection, par H. Rouvière, professeur agrégé à la Faculté de Paris. Tome I : *Tête, Cou, Membre supérieur*, 431 pages, 197 figures presque toutes en couleurs. *3e édition.*
Tome II et dernier : *Thorax. Abdomen. Bassin. Membre inférieur* (259 fig.). *3e édit.* Chaque vol., br. 22 fr.; Cartonné. . 25 fr.

Dissection, par P. Poirier, professeur, et A. Baumgartner, ancien prosecteur à la Faculté de Paris, chirurgien des hôpitaux. *4e édition.* XXIV-360 pages, avec 241 figures. Broché. 10 fr. Cartonné. 12 fr.

Médecine opératoire, par A. Broca, professeur à la Faculté de Paris. *2e édit.* 300 pages, avec 510 fig. Br. 14 fr. Cartonné. 16 fr.

Anatomie pathologique, par M. Letulle, professeur à la Faculté de Paris, et L. Nattan-Larrier, ancien chef de Laboratoire à la Faculté. Tome I. 940 pages, 248 figures, toutes originales. Broché. . 16 fr.
Cartonné. . . . . 19 fr.

Physique biologique, par G. Weiss, professeur à la Faculté de Paris. *4e édition.* 568 pages, 584 fig. Broché. 11 fr. Cartonné. . 13 fr.

Physiologie, par Maurice Arthus, professeur à l'Université de Lausanne. *6e édition.* 978 pages, 326 figures. Broché. . . . . 25 fr.
Cartonné . . . . . 28 fr.

Physiologie microbienne, par Maurice Arthus, professeur à l'Université de Lausanne. 407 pages. Broché, ... 17 fr.
Cartonné . . . . . 19 fr.

Chimie physiologique, par MAURICE ARTHUS, professeur de Physiologie à l'Université de Lausanne. *9e édition*. 430 pages, 115 figures et 5 planches en couleurs. Broché. . **20** fr. Cartonné. . **22** fr.

Biochimie, par E. LAMBLING, professeur à la Faculté de Médecine de Lille. *3e édition remaniée* . . . . . (*Sous presse.*)

Microbiologie clinique, par F. BEZANÇON, professeur de Bactériologie à la Faculté de Médecine de Paris. *3e édition complètement modifiée*. 894 pages, 7 planches en couleurs, 200 figures. Br. **30** fr.
Cartonné . . . . . **35** fr.

Microscopie, par M. LANGERON, préparateur à la Faculté de Médecine de Paris. *3e édition*. Broché . . . **30** fr. Cartonné. **34** fr.

Examens de Laboratoire employés en clinique, par L. BARD, professeur de Clinique médicale à l'Université de Strasbourg. *4e édition*. 848 pages avec 162 figures. Broché. . . . . **32** fr.
Cartonné. . . . . **35** fr.

Thérapeutique et Pharmacologie, par A. RICHAUD, professeur agrégé à la Faculté de Paris. *5e édition*. Broché. . . . . **27** fr.
Cartonné. . . . . **30** fr.

Hygiène, par J. COURMONT, professeur d'Hygiène à la Faculté de Médecine de Lyon. *2e édition*, revue et corrigée par MM. PAUL COURMONT, professeur d'Hygiène à la Faculté de Médecine de Lyon et A. ROCHAIX, chef des travaux d'hygiène à la Faculté de Médecine de Lyon. *2e édition*. 1 vol. de 880 pages, avec 227 fig. Broché. **32** fr.
Cartonné. . . . . **35** fr.

Déontologie et Médecine professionnelle, par E. MARTIN, professeur à l'Université de Lyon, 316 pages. Broché. . . . . **6** fr.
Cartonné. . . . . **8** fr.

Médecine légale, par A. LACASSAGNE, correspondant de l'Institut, ancien professeur de Médecine légale à la Faculté de Médecine de Lyon et ETIENNE MARTIN, professeur de Médecine légale à la Faculté de Médecine de Lyon. *3e édition*. 752 pages avec 115 fig. Br. **27** fr.
Cartonné . . . . . **30** fr.

Chirurgie infantile, par E. KIRMISSON, professeur à la Faculté de Paris. *2e édition*. XVIII-796 pages, avec 475 figures. Broché. . **12** fr.
Cartonné. . . . . **15** fr.

Médecine des enfants, par P. NOBÉCOURT, professeur à la Faculté de Paris. *4e édition*. . . . . (*En réimpression.*)

Ophtalmologie, par V. MORAX, ophtalmologiste de l'hôpital Lariboisière. *3e édition*, avec 247 figures et 4 planches hors texte en couleurs. Broché. . . **34** fr. Cartonné. . . . . **37** fr.

Dermatologie, par J. Darier, médecin de l'Hôpital Broca. *3e édition.* (*En préparation.*)

Parasitologie, par E. Brumpt, professeur de Parasitologie à la Faculté de Médecine de Paris. *3e édition.* . . . . . (*En préparation.*)

Pathologie chirurgicale, par MM. Bégouin, Bourgeois, Pierre Duval, Gosset, Jeanbrau, Lecène, Lenormant, R. Proust, Tixier. *3e édition.* 4 volumes formant ensemble 4 272 pages avec 1 476 figures. Chaque volume. Broché . . . . 25 fr. Cartonné . . . 28 fr.

Tome I. — *Pathologie chirurgicale générale. Maladies générales des tissus, Crâne et Rachis. 3e édition.*

Tome II. — *Tête, Cou, Thorax. 3e édition.*

Tome III. — *Gl. mammaires, Abdomen, Appareil génit. de l'Homme.*

Tome IV. — *Appareil urinaire. Gynécologie. Fractures et luxations, affections des membres.*

Pathologie médicale, par MM. Fernand Bezançon, Léon Bernard, M. Labbé, Sicard, avec la collaboration de MM. Clerc, Émile Weill, Philibert, de Jong, Bloch, Pasteur Vallery-Radot, Vitry. 6 volumes de 500 à 600 pages, avec une importante illustration. (*En préparation.*)

Précis de Technique opératoire

PAR LES PROSECTEURS DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Chaque volume est illustré de plus de 200 figures.

Pratique courante et chirurgie d'urgence, par V. Veau. *6e éd.*, 331 fig. Br. 6 fr. Cart. 7 50

Tête et cou, par Ch. Lenormant. *5e éd.*, 247 fig. Br. 6 fr. Cart. 7 50

Thorax et membre supérieur, par A. Schwartz. *4e éd.*, 199 fig. Br. 6 fr. Cart 7 50

Abdomen, par M Guibé. *5e éd.*, 242 fig. Br. 10 fr. Cart. 12 50

Appareil urinaire et appareil génital de l'homme, par P. Duval. *4e éd.*, 234 fig. Br. 6 fr. Cart. 7 50

Appareil génital de la femme, par R. Proust. *5e édition.* Revisée par le Dr Charrier, prosecteur à la Faculté de Médecine de Paris . . . . (*Sous presse.*)

Membre inférieur, par G. Labey. *4e éd.*, 241 figures. Br. . 6 fr. Cart. 7 50

A la même librairie

Travaux pratiques d'Anatomie pathologique, *en quatorze séances*, par G. Roussy, professeur agrégé, chef des Travaux d'Anatomie pathologique à la Faculté de Paris et J. Bertrand, externe des Hôpitaux de Paris, moniteur des Travaux pratiques d'Anatomie pathologique, préface du professeur Pierre Marie. *2e édition.* 240 pages, 114 figures. . . . . **12 fr. net.**

Travaux pratiques d'Anatomie pathologique. 2e série, *Diagnostic des Tumeurs*, par Gustave Roussy, professeur agrégé, chef des Travaux d'Anatomie pathologique à la Faculté de Paris et R. Leroux, moniteur des Travaux pratiques d'Anatomie pathologique à la Faculté de Paris. 1 vol. de 352 pages avec 129 figures. . **25 fr. net.**

Manuel d'Embryologie, par Christian Champy, professeur agrégé à la Faculté de Médecine de Paris. 1 vol. avec figures originales et 6 planches en couleurs. . . . . **12 fr. net.**

Abrégé d'Histologie. *Vingt leçons avec notions de technique*, par H. Bulliard, préparateur d'Histologie à la Faculté de Paris et Ch. Champy, professeur agrégé à la Faculté de Paris, préface du professeur A. Prenant. *2e édition remaniée.* 1 vol. de 334 pages avec 180 figures et 6 planches en couleurs. . . . . (*Épuisé.*)

Manuel de Pathologie interne, par Georges Dieulafoy. Nouveau tirage conforme à la 16e édition. 4 vol. formant ensemble 4 300 pages avec figures en noir et en couleurs. . . . . **70 fr. net.**

Éléments d'Obstétrique. *4e édition*, par Wallich, professeur agrégé à la Faculte de Paris. 1 vol. de 709 pages avec 180 figures dans le texte . . . . . **26 fr. net.**

1413-21. — Coulommiers. Imp. Paul BRODARD. — 11-21.

Pr. 953.

PRÉCIS DE

PHYSIOLOGIE MICROBIENNE

DU MÊME AUTEUR

PRÉCIS DE CHIMIE PHYSIOLOGIQUE. *Neuvième édition, revue et corrigée.* 1 vol. in-8 de la *Collection de Précis Médicaux,* avec 115 figures dans le texte et 5 planches hors texte en couleurs.
Broché. . . . . 20 fr. »
Cartonné. . . . . 22 fr. »

PRÉCIS DE PHYSIOLOGIE. *Sixième édition entièrement refondue.* 1 vol. in-8 de la *Collection de Précis Médicaux.* 978 pages et 326 figures en noir et en couleurs. Broché. . . 25 fr. »
Cartonné. . . . . 28 fr. »

LA PHYSIOLOGIE, *Méthodes, résultats, hypothèses,* 1 vol. petit in-8 de VIII-432 pages, de la collection *Les Sciences d'aujourd'hui,* broché. . . . . 10 fr. »

DE L'ANAPHYLAXIE A L'IMMUNITÉ. *Anaphylaxie. Protéotoxies. Envenimations. Anaphylaxie-immunité. Sérums antivenimeux.* 1 vol. . . . . 20 fr. »

L'ALCOOL EST-IL UN ALIMENT ? 1 brochure in-8. . . . 0 fr. 50

PRÉCIS DE
PHYSIOLOGIE MICROBIENNE

PAR

MAURICE ARTHUS
Correspondant national de l'Académie de Médecine.
Professeur de physiologie à l'Université de Lausanne.

MASSON ET Cie, ÉDITEURS
LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, PARIS, VIe
1921

c. Physiol

Tous droits de reproduction, de traduction et d'adaptation réservés pour tous pays.

Copyright 1921 by Masson et Cie.

K-QR181
A9
Biology
Library

PRÉFACE

Je me plaignais un jour devant un biologiste de mes amis de ce que, trop souvent, au temps où nous vivons, les mémoires et les ouvrages de biologie en général et de microbiologie en particulier présentent plusieurs défauts, infiniment graves à mes yeux : on y fait la part trop large à la technique, à l'érudition, aux théories ; on y néglige trop l'expérience, la grande dominatrice des sciences de la vie ; enfin on n'y sent pas vibrer une âme, qui a tressailli au contact de la nature vivante, révélée par l'expérimentation.

Et comme je m'indignais qu'en notre pays de France, des biologistes se complaisent dans les nébulosités d'Outre-Rhin, oubliant qu'ils sont du pays de *Cl. Bernard* et de *Pasteur*, mon ami, le biologiste, me dit à peu près ceci. Vous avez peut-être de bonnes raisons de critiquer et de maudire, mais, vous le savez, la critique est facile et l'art est difficile. Il est aisé de démolir, mais rebâtirait-on mieux ? Et, ajouta-t-il, avec une évidente malice, que diriez-vous si l'on vous demandait d'écrire pour les étudiants un précis de microbiologie ? Je l'écrirais, lui répondis-je. Pouvais-je répondre autrement ?

M245660

Telle est l'origine de ce petit précis. Il n'est pas parfait sans aucun doute, mais je n'ai pas commis les fautes que je reprochais à autrui. Et peut-être, en le lisant, nos étudiants sentiront-ils leurs âmes latines s'épanouir et s'échauffer aux rayons du soleil latin.

Maurice Arthus.

TABLE DES MATIÈRES

CHAPITRE	I.	— Le problème des générations spontanées. .	1
—	II.	— Les conditions et les manifestations générales de la vie des microbes..	18
—	III.	— Les fermentations.	38
—	IV.	— Les diastases microbiennes.	66
—	V.	— Les maladies microbiennes.	76
—	VI.	— Les toxines microbiennes..	112
—	VII.	— Les protéines toxiques et les venins.. . .	133
—	VIII.	— L'immunité antitoxique.	154
—	IX.	— Les sérums antitoxiques.	172
—	X.	— L'anaphylaxie.	200
—	XI.	— Les sérums précipitants et les sérums agglutinants.	237
—	XII.	— Les sérums bactériolytiques, hématolytiques et cytotoxiques.	254
—	XIII.	— L'immunité antimicrobienne naturelle.. .	281
—	XIV.	— Les immunisations antimicrobiennes ou vaccinations.	310
—	XV.	— Les mécanismes de l'immunité acquise.. .	334
—	XVI.	— La résistance de l'organisme et la virulence microbienne..	364

CHAPITRE PREMIER

LE PROBLÈME DES GÉNÉRATIONS SPONTANÉES

SOMMAIRE. — Les microbes des infusions ; leurs principales formes. — Origine des microbes. — L'énoncé du problème des générations spontanées. — Les êtres vivants ne résistent pas à la température d'ébullition. — Stérilisation de l'eau de levure par l'ébullition ; critique de l'expérience. — Stérilisation de l'air à haute température ou par filtration sur coton. — Interprétation des expériences et réfutation des objections des partisans de la génération spontanée. — Généralisation des résultats ; lait, eau de levure alcalinisée. — Nécessité de stériliser à l'autoclave à 120° et discussion. — Stérilisation discontinue par la chaleur à 100° ou à 58-60°. — Filtration sur porcelaine dégourdie. — Conservation aseptique des liquides organiques stériles, sang, urine. — La génération spontanée est-elle une impossibilité absolue ? — Un postulat biologique. — Pasteur. — *Réflexions : résistance des microbes à la chaleur ; conditions de la stérilisation ; stérilité apparente et stérilité réelle. — La spore microbienne. — Microbes de l'air : isolement, vitalité, distribution. — Microbes des eaux ; microbes des poussières et du sol.*

Lorsqu'on abandonne à elles-mêmes des matières organiques quelconques ou des liqueurs contenant en solution des matières organiques, on reconnaît qu'au bout d'un temps plus ou moins long, suivant leur nature et les conditions ambiantes, elles subissent des altérations, que de coutume on appelle *putréfactions* : le bouillon de viande se trouble et aigrit ; le sang noircit et prend une odeur putride, etc. En même temps, dans ces liqueurs ou matières altérées, on reconnaît, au microscope fortement grossissant, de très petits éléments organisés, et qui ne s'y trouvaient pas tout d'abord.

Les uns sont de minuscules grains sphériques ou légèrement ovoïdes, dont la plupart ont de 1/3 μ à 3 μ de diamètre, les *coccus* ou *micrococques*, isolés ou réunis deux par deux (*diplocoques*), ou groupés en plus grand nombre, et formant alors tantôt des chapelets (*streptocoques*), tantôt des amas irréguliers (*staphylocoques*). Les autres sont de petits bâtonnets plus ou moins allongés, dont la plupart ont de 1/5 μ à 1 μ de largeur et de 2 à 10 μ de longueur : ce sont des *bacilles* (les bacilles courts sont dit *bactéries* ; les bacilles très longs, *filaments*). Les bacilles ne sont pas toujours régulièrement cylindriques : il en est dont la partie moyenne est renflée ou rétrécie ; il en est dont une extrémité ou les deux extrémités sont arrondies, renflées ou étirées. Parmi les filaments, on distingue les *spirilles*, grêles, spiralées à tours plus ou moins nombreux (les *spirochètes* sont des spirilles à tours irréguliers). Les *vibrions* enfin sont des bacilles courts et contournés, ne représentant qu'un fragment de spire. On peut encore reconnaître, parfois sinon toujours, dans ces milieux organiques altérés des *levures*, des *moisissures*, des *infusoires*.

On réunit ces êtres microscopiques sous le nom de *microbes*, groupant ainsi des espèces qui diffèrent par leurs formes et leurs structures, mais qui ont ou peuvent avoir des caractères biologiques communs, se multipliant, quand les conditions de composition du milieu et de température le permettent, avec une rapidité déconcertante, transformant des quantités infiniment grandes de matières, provoquant dans les organismes supérieurs qu'ils envahissent des troubles considérables, malgré que leur volume soit infiniment petit par rapport à celui de la substance transformée ou de l'organisme parasité.

D'où viennent ces envahisseurs innombrables et si variés des milieux organiques? On peut imaginer qu'ils dérivent d'êtres semblables, se multipliant comme se multiplient les plantes et les animaux. Et de fait, en observant, au microscope, pendant un temps suffisant et dans des conditions favorables, une gouttelette de la liqueur riche en microbes, on a vu les bactéries se diviser, les levures bourgeonner, les moisissures pousser des ramifications, etc. Mais les microbes proviennent-ils toujours et nécessairement de microbes de même espèce, préexistant dans le milieu ? Quand on examine, à quelques heures d'intervalle, une liqueur organique, on est vivement impressionné de ce

que cette liqueur, qui ne renferme que de très rares microbes avant la putréfaction, en renferme des milliards durant la putréfaction, et qui sont apparus en un temps très court. Et cette question se pose nécessairement : *tous ces microbes ne se sont-ils pas produits spontanément aux dépens de la matière organique des liqueurs,* celle-ci s'agglomérant et s'organisant d'elle-même, quand des circonstances favorables le permettent, recouvrant sous une forme nouvelle, simplifiée, la vie qu'elle possédait quand elle appartenait à l'être, dont elle faisait antérieurement partie ; de sorte que la vie succéderait à la mort et à la désagrégation, comme la mort et la désagrégation succèdent à la vie en une suite ininterrompue ; de sorte aussi qu'on pourrait compléter la loi des physiciens : rien ne se crée, rien ne se perd, ni matière, ni énergie, et la formuler ainsi : *rien ne se crée, rien ne se perd, ni matière, ni énergie, ni vie.* C'est là *le problème des générations spontanées.*

Durant l'antiquité et le moyen âge, on admettait sans réserve que de nombreux êtres, et même des êtres d'organisation très complexe, se produisent spontanément ; mais grâce aux observations méthodiques des naturalistes et aux essais systématiques des expérimentateurs, le domaine des générations spontanées se rétrécit tant et si bien qu'au XVIIe siècle aucun savant n'imaginait qu'un être quelconque, de ceux qu'on connaissait alors, ait pu ne pas dériver d'êtres semblables à lui. La question des générations spontanées ne se posa de nouveau qu'à la fin de ce XVIIe siècle, et justement à l'occasion de ces infiniment petits, qui peuplent les liqueurs organiques altérées, et que le microscope, nouvellement inventé, avait permis d'y découvrir.

Raisonnons d'abord. Si les microbes peuvent se produire spontanément dans les liqueurs organiques, on les y verra apparaître, même si on a détruit ou éliminé tous ceux qui s'y trouvaient, et si on a pris soin, par des dispositions convenables, d'empêcher la venue de microbes étrangers. Or, *aucun être,* parmi ceux dont nous savons reconnaître qu'ils sont vivants ou qu'ils sont morts, *ne peut subir l'action d'une température élevée (100° p. ex.) sans périr.* Il semble légitime de supposer que les microbes obéissent à cette loi, commune aux animaux et aux végétaux ; et, comme eux, meurent quand on porte à 100° les milieux

qui les contiennent. Si cette dernière supposition est exacte, il doit être possible de tuer tous les microbes d'un milieu organique en le chauffant à 100° (on dit encore de *stériliser le milieu* à 100°) ; il suffira de conserver en vase rigoureusement clos la matière bouillie pour empêcher l'arrivée de nouveaux microbes. Si le milieu ainsi préparé se peuple rapidement d'innombrables coccus, bactéries, spirilles, etc., n'en faudra-t-il pas conclure qu'il y a génération spontanée des microbes ? Si, les microbes ne s'y développant pas, le milieu reste indéfiniment stérile, n'en faudra-t-il pas conclure qu'il n'y a pas génération spontanée des microbes ? Interrogeons l'expérience.

Faisons bouillir dans 1 litre d'eau 100 gr. de levure pressée, jetons sur un filtre, recueillons le liquide ou *eau de levure*. Introduisons-en 50 c.c. en des ballons de 250 c.c. à col étiré en pointe ouverte ; faisons bouillir 5 min., pour tuer les microbes du ballon et du liquide et chasser l'air du ballon, et, durant cette ébullition, fermons à la lampe la pointe du col du ballon. L'eau de levure ainsi traitée se conserve indéfiniment inaltérée : on n'y aperçoit ni trouble, ni végétations superficielles ; si on ouvre le ballon, on ne perçoit aucune odeur de putréfaction ; le liquide examiné au microscope ne renferme pas de microbes. — Ouvrons maintenant le ballon, en sectionnant transversalement le col, et abandonnons-le ouvert pendant quelques jours, l'axe du col dirigé verticalement : le liquide ne tarde guère à se troubler, ou à se recouvrir d'une pellicule envahissante, et l'examen microscopique y révèle d'innombrables microbes d'espèces diverses.

Ces expériences comportent une conclusion. L'eau de levure, débarrassée par ébullition des microbes qu'elle contenait, et maintenue à l'abri des souillures microbiennes par fermeture hermétique du ballon, ne renferme pas de microbes après des semaines et des années ; les matières organiques qu'elle tenait en solution sont donc inaptes à s'organiser en microbes, dans les conditions ici réalisées. Les manipulations, auxquelles le liquide a été soumis en vue de stérilisation, ne l'ont d'ailleurs pas modifié au point de le rendre toxique pour les microbes, ou tout au moins impropre à la multiplication de microbes préformés, puisque les microbes de l'air, qu'on y laisse pénétrer en ouvrant le col, y prospèrent fort bien. N'en faut-il pas conclure

que les microbes des matières ou liqueurs organiques en putréfaction dérivent de germes préexistants, et non d'une génération spontanée ?

Pourtant, avant d'admettre cette conclusion, serrons d'un peu plus près l'expérience, qui vient d'être résumée. En faisant bouillir, quelques minutes, l'eau de levure pour la stériliser, nous avons chassé l'air du ballon : c'est dire que le ballon fermé ne contient plus que le liquide organique et de la vapeur d'eau, sans air. *Peut-être l'eau de levure est-elle incapable d'engendrer spontanément des microbes en l'absence de l'air, mais serait-elle capable d'en produire en présence de l'air* : les putréfactions réalisées dans la nature, en dehors d'interventions expérimentales, se font, semble-t-il, au contact de l'air atmosphérique, libre ou dissous dans l'eau. Il convient, pour lever cette réserve ou objection, de compléter l'expérience.

Introduisons de l'eau de levure dans un ballon à long col étiré à son extrémité ; relions celle-ci à un tube métallique disposé dans un fourneau, où il pourra être fortement chauffé ; portons et maintenons le tube métallique au rouge ; faisons bouillir le liquide du ballon pour le stériliser et pour chasser l'air contenu dans le ballon et dans le tube métallique, puis cessons le chauffage du ballon, sans éteindre le fourneau disposé sous le tube métallique. La vapeur d'eau se condensant dans le ballon durant le refroidissement, un vide s'y produit, que vient combler l'air atmosphérique, en passant par le tube métallique, où il est très fortement chauffé et par conséquent stérilisé. Quand le ballon est refroidi, on ferme le col à la lampe et on le conserve au laboratoire. Le liquide se maintient indéfiniment inaltéré, malgré que le ballon ait été rempli d'air. Vient-on à ouvrir le ballon, en coupant le col transversalement d'un coup de lime, et l'abandonne-t-on, redressé et ouvert, pendant quelques jours, on voit l'eau de levure se troubler et on reconnaît au microscope qu'elle est peuplée d'une multitude de microbes de toutes formes et dimensions.

La conclusion énoncée se confirme : *les microbes qu'on trouve dans les matières en putréfaction dérivent de microbes préexistants et non d'une génération spontanée.*

Pourtant une objection peut encore être élevée contre cette conclusion : l'air qui a pénétré dans le ballon a été fortement chauffé durant son passage à travers le tube

métallique; n'a-t-il pas subi, du fait de ce chauffage, quelque transformation (inconnue certes), qui le rendrait impropre à assurer au contenu du ballon les conditions nécessaires à la génération spontanée? L'oxygène, l'azote, l'acide carbonique, la vapeur d'eau de l'air n'ont pas été modifiés par ce chauffage, les chimistes nous l'affirment; mais ces quatre matières sont-elles tout ce que renferme l'air? Ne savons-nous pas que l'air contient des traces de gaz divers, néon, argon, etc., et peut-être quelques autres, dont l'un ou plusieurs pourraient être nécessaires à la génération spontanée et qu'un chauffage à température élevée détruirait ou altérerait? Perfectionnons notre technique.

De l'eau de levure est portée à l'ébullition dans le ballon à col effilé, pour stériliser et chasser l'air du ballon; durant que la vapeur s'échappe, on adapte l'extrémité effilée à un tube de verre contenant une *bourre de coton* moyennement pressée (tube et bourre stérilisés par chauffage préalablement), et on cesse de chauffer le ballon. Par condensation de la vapeur d'eau qu'il renferme, le vide se fait dans le ballon; l'air y pénètre donc en traversant la bourre de coton, à laquelle il abandonne toutes les poussières en suspension, jusqu'à refroidissement complet du ballon et de son contenu. Le col est fermé à la lampe et le ballon conservé au laboratoire; le liquide demeure absolument stérile: l'air non chauffé, filtré sur coton, ne lui a pas conféré le pouvoir de produire une génération spontanée.

Si l'on prétendait que le simple passage de l'air sur le coton a peut-être suffi pour l'altérer, on réaliserait l'expérience de la façon suivante.

Reprenons le même ballon renfermant la même eau de levure; *étirons le col rétréci du ballon en lui faisant prendre la forme d'un* S; puis faisons bouillir pour stériliser et chasser l'air du ballon; laissons ensuite refroidir très lentement: la condensation de la vapeur d'eau se fait tout aussi lentement; l'air atmosphérique rentre dans le ballon par le col rétréci, contourné, et dont les parois internes sont humides de toute l'eau qui s'y est condensée; il abandonne toutes ses poussières à cette eau et pénètre dans le ballon, stérile. Dans ces conditions le liquide du ballon reste indéfiniment inaltéré, malgré que le ballon renferme de l'air qui n'a été ni fortement chauffé ni filtré sur coton, malgré qu'il communique avec l'atmosphère par son col contourné. L'ébullition de l'eau de levure ne l'a pas rendue impropre au développement de germes microbiens, car si on tranche le col d'un coup

de lime et si on abandonne le ballon ainsi largement ouvert au contact de l'air, l'eau de levure ne tarde pas à se troubler et à se peupler de microbes.

Il n'y a donc pas de génération spontanée dans ces expériences ; mais on pourrait penser qu'en faisant bouillir l'eau de levure pour la stériliser, on lui a fait subir quelque modification qui, tout en la laissant propre à satisfaire aux besoins alimentaires des microbes qu'on y laisse pénétrer, l'aurait rendue impropre à s'organiser elle-même en microbes et à manifester une génération spontanée. Je m'appliquerai tout à l'heure à écarter cette objection.

Les expériences dont il vient d'être question ont toutes été faites avec de l'eau de levure ; la conclusion énoncée ne saurait présentement s'appliquer qu'à ce liquide. *Les autres liquides organiques se comportent-ils, dans les mêmes conditions expérimentales, comme l'eau de levure,* ou bien, différant de l'eau de levure, peuvent-ils, après avoir subi l'ébullition stérilisatrice, manifester une génération spontanée ?

Si on répète les expériences en substituant à l'eau de levure *du lait,* par exemple, on constate que, malgré tout le soin apporté à la préparation, il s'altère et se peuple toujours de nombreux microbes. Et maintes autres liqueurs organiques se comportent comme le lait. Il n'est pas jusqu'à *l'eau de levure* (qui nous a fourni des résultats si défavorables à la doctrine des générations spontanées) qui ne puisse se peupler de microbes après ébullition, même quand les microbes du dehors n'y peuvent pénétrer : il suffit qu'elle ait été *très faiblement alcalinisée.*

Si le lait, si l'eau de levure alcalinisée ne demeurent point stériles après ébullition, et durant qu'ils sont conservés à l'abri des germes du dehors, ne doit-on pas conclure que la preuve de la génération spontanée est faite, ne doit-on pas penser que si l'eau de levure non alcalinisée, par contre, demeure stérile après ébullition c'est que la réaction qu'elle présente est incompatible avec la production spontanée des microbes? Or il suffit de trouver un seul cas où des microbes se développent, sans qu'on puisse les faire dériver de germes préexistants pour que *l'hypothèse des*

générations spontanées devienne une *vérité scientifique.*

Nous avons admis que la température de 100° suffit à tuer tous les microbes, basant cette opinion sur ce qu'aucun animal ou végétal ne survit à l'action d'une telle température. Mais n'avons-nous pas commis là une imprudence ? La température minima mortelle n'est pas la même pour tous les êtres animaux et végétaux ; pourquoi ne différerait-elle pas pour ceux-ci et pour les microbes, ou tout au moins certains microbes ? La question de la fixation de la température minima mortelle pour les microbes doit être traitée directement, non par analogie. Expérimentons donc. Recherchons par exemple si *une température supérieure à 100°, une température de 120°,* ne réaliserait pas cette *stérilité absolue,* qu'on n'obtient pas toujours à 100°.

Introduisons dans des ballons à col effilé des liqueurs organiques (de celles qui se peuplent de microbes quand on les porte simplement à 100°, lait, eau de levure alcalinisée, etc.). Fermons les ballons à la lampe et chauffons-les 1 heure à 120° dans la *marmite de Papin* ou dans un *autoclave,* puis conservons les ballons sans les ouvrir pendant des mois au laboratoire. Tous restent indéfiniment stériles, quelle que soit la liqueur ou la matière organique employée.

Tous les liquides organiques sont donc stérilisés définitivements à 120° ; mais, en portant à cette température du lait ou de l'eau de levure alcalinisée, n'en a-t-on pas modifié la constitution au point de leur faire perdre la propriété de s'organiser en microbes, propriété que ne leur aurait pas ravie le chauffage à 100° ? Sans doute, ces liqueurs chauffées à 120° se peuplent de microbes quand on ouvre les ballons pour que les germes atmosphériques y puissent pénétrer, mais cette observation prouve simplement qu'*ils sont aptes à assurer le développement de microbes dérivant de microbes* ; cela ne prouve pas qu'ils n'ont pas perdu à 120° la propriété qu'ils avaient peut-être avant d'être ainsi fortement chauffés. C'est la seconde fois que l'objection se présente à nous (p. 7) ; il faut en étudier la valeur.

Pour sortir d'embarras, on a recouru à plusieurs artifices. On a tout d'abord démontré qu'*on peut stériliser par*

la chaleur des matières très diverses sans chauffer à 120° ni même à 100°.

Prenons du lait ou de l'eau de levure alcalinisée (ou toute autre liqueur que le chauffage à 100° ne stérilise pas totalement); chauffons-les en vases clos ou bouchés à l'ouate 1 h. à 100°; répétons ce traitement 3 ou 4 jours consécutifs, en conservant entre les chauffages, les fioles à 20-25°, ou simplement à la température du laboratoire. Les liqueurs demeurent indéfiniment stériles. Il n'est d'ailleurs pas nécessaire de chauffer à 100° ; il suffit de porter les ballons à 58-60° pendant 1 h. 3 jours consécutifs ; pour en assurer la stérilité absolue (*chauffage discontinu*).

Dira-t-on que *la température de 58-60°* a modifié assez profondement les liqueurs pour leur faire perdre leur *capacité de génération spontanée* ? C'est fort invraisemblable. Mais peut-être vaut-il mieux renoncer à lutter pied à pied sur le terrain de la stérilisation par la chaleur et recourir à d'autres procédés de démonstration.

On a pu débarrasser l'air des microbes qu'il renferme en le faisant filtrer à travers une bourre de coton. Ne pourrait-on songer à priver les liquides organiques des microbes qui s'y trouvent en les filtrant sur une matière bien choisie ? Le coton ne convient pas (car seul le coton sec constitue un filtre efficace) ; peut-être le *coton de verre* ou l'*amiante* conviendraient-ils mieux. On a utilisé et on trouve dans le commerce *des filtres ou bougies filtrantes de plâtre ou mieux de terre d'infusoires, ou de porcelaine dégourdie, ou de porcelaine d'amiante,* qu'on stérilise avant usage en les portant à 120° à l'autoclave. Sans entrer dans les détails de la technique des filtrations, disons que *les liquides organiques filtrés sont et demeurent indéfiniment stériles,* au moins en général. Nous disons en général et non pas toujours : il y a en effet quelques insuccès quand on stérilise les filtres secs à 120° ; mais il n'y en a plus quand on porte ces mêmes filtres et les flacons secs à 150-180° pendant 1 h. dans une *étuve à air,* ou *four à flamber.*

Imaginera-t-on que le liquide, en traversant les pores du filtre a perdu cette propriété de s'organiser spontanément en microbes, qu'il

aurait eue avant filtration ? C'est bien invraisemblable. Reconnaissons pourtant que l'expérience n'est pas parfaite : en comparant la composition du liquide filtré et du liquide à filtrer, on constate d'importantes différences, surtout quantitatives, portant essentiellement sur les matières organiques, sur les protéines en particulier : le liquide filtré est appauvri en protéines. Le filtre n'aurait-il pas, avec une partie des protéines, retenu quelque élément nécessaire à la génération spontanée des microbes ?

En vérité, il serait désirable qu'on disposât de *liquides stériles non seulement sans devoir les chauffer, mais même sans devoir leur faire subir aucun traitement,* de quelque nature qu'il soit, et qu'on pourrait toujours accuser d'avoir détruit la capacité d'organisation ou de génération spontanée. Ce désideratum peut être réalisé au moins pour certaines liqueurs de l'organisme : plusieurs d'entre celles-ci, dans l'organisme normal, ne renferment pas de microbes, tout en constituant des milieux favorables au développement des germes qu'on y introduit. Tels sont *le sang, l'urine, le lait,* d'autres encore. Il est facile de retirer les deux premiers de ces liquides sans les souiller de microbes ; il est possible, sinon très facile, d'y réussir pour le troisième. Or, *à l'abri de microbes venant du dehors, ces liquides se conservent indéfiniment stériles* : la génération spontanée ne s'y produit pas.

Dans un ballon à col effilé terminé en pointe faisons pénétrer quelques c.c. d'eau, portons à l'ébullition pour stériliser la cavité et le contenu du ballon et pour chasser l'air qui le remplissait. Fermons la pointe à la lampe, laissons refroidir ; la vapeur se condense, le vide se fait dans le ballon. Sur un chien, préparons aseptiquement l'artère fémorale p. ex., et enfonçons à travers sa paroi la pointe effilée du ballon, flambée au moment de faire cette manœuvre et poussons-la dans l'artère vers le cœur jusqu'à ce que soit obturée l'artère. Brisons la pointe dans l'artère : le sang jaillit dans le ballon ; retirons la pointe et fermons-la à la lampe. Si aucune faute n'a été commise durant la manœuvre (qui aurait eu pour conséquence de laisser pénétrer des microbes dans le ballon), *le sang* ainsi recueilli se conserve indéfiniment sans se putréfier et sans se peupler de microbes. La génération spontanée ne s'y observe pas.

Pour obtenir de l'*urine aseptique,* on procédera de la même façon ; au lieu d'enfoncer la pointe dans l'artère dénudée, on l'enfoncera,

chez le chien ou le lapin, à travers la paroi de la vessie mise à nu par ouverture, aseptiquement pratiquée, de la cavité abdominale. L'urine se conserve inaltérée, comme le sang, si la manœuvre a été aseptiquement exécutée. Et l'on pourrait multiplier les essais, en recueillant d'autres liquides ; les résultats sont toujours identiques.

Dans les essais dont il vient d'être question ci-dessus les liqueurs organiques stérilisées par la chaleur, ou recueillies aseptiquement dans des vases stérilisés se conservent indéfiniment inaltérées, ne manifestant jamais de génération spontanée. Qui oserait supposer que ces mêmes liqueurs conservées en vases non stérilisés et largements ouverts à l'air, et subissant dans de telles conditions la putréfaction et l'envahissement microbien, auraient pu engendrer spontanément, en s'organisant, les microbes qui les peuplent, ou une partie de ces microbes ? Non, *la doctrine de la génération spontanée est en flagrante opposition avec les faits expérimentaux* : elle ne saurait être conservée.

Mais est-il permis de conclure de façon absolue qu'il n'y a pas de génération spontanée ? Ce serait là une imprudence : peut-être quelque jour découvrira-t-on tel liquide de l'organisme ou telle liqueur artificiellement constituée, qui, placés dans telle condition, soumis à telle influence, se peuplera de microbes, malgré que le liquide ou la liqueur aient été stérilisés et conservés à l'abri de toute contamination microbienne. Toutefois, s'il convient de réserver l'avenir, pour satisfaire aux exigences de la prudence scientifique, *on peut*, en considérant le passé et le présent, *conclure des millions d'expériences réalisées dans les laboratoires, les hôpitaux et les usines qu'il n'a pas été constaté jusqu'ici de fait de génération spontanée*. Chaque fois qu'on a publié un exemple de génération spontanée, il a été possible d'établir que la technique employée était imparfaite, et qu'à tel moment, dans telle circonstance, on avait introduit dans le milieu organique des microbes, dont on avait, par erreur, considéré les descendants comme le produit d'une génération spontanée.

De même que les mathématiciens énoncent des *postulats*, c'est-à-dire des propositions dont la démonstration ne peut pas être faite, mais qui sont vérifiés dans la pratique courante par toutes les conséquences qui en découlent, de même énoncerons-nous *un postulat biologique : il*

n'y a pas de génération spontanée. Et cette *vérité pratique* est justifiée par toutes les observations des biologistes, des médecins, des chirurgiens, des hygiénistes, des industriels.

L'exposé qui est présenté dans ce Précis est systématiquement anonyme : j'omets soigneusement de citer les noms des savants, auxquels nous sommes redevables d'une découverte ou d'une démonstration. Je veux pourtant faire ici une exception, en citant le nom de *Pasteur.* C'est à lui que nous devons la solution du problème des générations spontanées, telle que je l'ai sommairement résumée ; de nombreux savants, et non des moins brillants s'y étaient vainement appliqués avant lui. Je cite le nom de Pasteur parce que *ses études sur les générations spontanées ont eu une influence incalculable sur le développement de la médecine, de l'hygiène, de l'industrie* et ont été à l'origine de *la plus grande révolution scientifique* qu'ait enregistrée l'histoire de l'humanité.

Partant d'une observation microscopique et se proposant de résoudre une question de *philosophie scientifique,* Pasteur fut amené par le développement de la recherche expérimentale à découvrir certains faits, et surtout à *créer et organiser une technique* qu'il livra aux hommes pratiques pour en tirer les merveilleuses utilisations qui en découlent. Et de fait, une partie tout au moins des méthodes hygiéniques de *désinfection* et de *stérilisation* repose sur ces études du problème des générations spontanées et n'est qu'une *adaptation industrielle des procédés de laboratoire* : désinfection des objets de pansement, des instruments d'opération, etc. par le chauffage au four à flamber, stérilisation des conserves alimentaires par le chauffage à l'autoclave à 120°, filtration des eaux polluées, destinées aux usages domestiques sur bougies de porcelaine dégourdie, etc., etc. Il suffit de noter très brièvement ces applications sans insister, et sans entrer dans l'exposé des réalisations pratiques, en raison du caractère de ce précis.

Quelques réflexions s'imposent ici à notre attention.

Première remarque. — Nous avons abordé expérimentalement le problème des générations spontanées en partant de cette notion que les animaux et les végétaux ne peuvent supporter sans périr une température de 100°, et en imaginant que les microbes subissent vraisemblablement la loi commune. Le développement des recherches a permis de reconnaître que cette supposition ne se vérifie pas complètement : tous les microbes ne sont pas toujours détruits à 100° ; pour un certain nombre, et au moins dans certaines circonstances de

milieu, leur destruction n'est assurée qu'à une température plus élevée, 120° dans les milieux liquides ou saturés de vapeur d'eau, 150° à 180° en l'absence de toute humidité.

Cette constatation nous invite à la *prudence dans la généralisation* : il ne faut étendre aux microbes les lois présidant à la vie et à la mort des animaux et végétaux que sous bénéfice de vérification.

Deuxième remarque. — En milieu saturé de vapeur d'eau tous les microbes sont tués à 120° ; ils ne le sont qu'à 150°-180° en milieu rigoureusement sec. Dans les deux circonstances, on est autorisé, à coup sûr, à considérer la chaleur comme la *cause* de la mort des microbes ; quant à l'état d'humidité ou de sécheresse de l'air, il constitue une simple *condition* d'action de la chaleur, favorable dans le premier état, défavorable dans le second.

Cette constatation nous invite à ne pas oublier qu'il faut toujours, dans les sciences expérimentales, rechercher non seulement les causes, mais encore les conditions, et toujours fixer jusque dans les plus petits détails le *déterminisme des expériences*.

Troisième remarque. — L'eau de levure, chauffée à 100° en vase clos, rempli d'air stérile, demeure indéfiniment inaltérée. Il semble bien qu'on soit autorisé à admettre qu'elle ne renferme plus de microbes vivants, la température de 100° assurant ainsi sa stérilité parfaite. Mais cette eau de levure se peuple de microbes si, toutes dispositions étant prises pour éviter la pénétration de germes extérieurs, on l'alcalinise légèrement. Or nous avons reconnu qu'il ne s'agit pas là de génération spontanée (p. 9) ; il faut donc admettre que l'eau de levure chauffée à 100° renferme encore des microbes vivants, que le chauffage à 100° a rendus inaptes à se multiplier dans les conditions du milieu où ils se trouvent, tout en les laissant aptes à se multiplier dans des conditions autres, notamment quand le milieu est alcalinisé. L'eau de levure chauffée à 100° n'était stérile qu'en apparence ; l'eau de levure chauffée à 120° est absolument stérile, car on n'a pas réussi à y faire se développer des microbes, quelle que soit la modification physique ou chimique apportée à la liqueur.

Ces constatations nous amènent à distinguer une *stérilité apparente* et une *stérilité réelle* ; elles nous mettent en garde contre la tendance que nous pourrions avoir à conclure précipitamment de l'absence de développement microbien en un milieu donné à une stérilisation réelle.

Quatrième et dernière remarque. — Nous avons stérilisé une liqueur organique en la portant 1 h., 3 jours de suite, à 58-60°, alors qu'un chauffage de 3 h. consécutives à cette température ne la stérilise pas.

Comment interpréter ces faits ? Le troisième jour avant le chauffage, le liquide renferme encore des microbes vivants, car si on le conserve sans le chauffer, il ne demeure pas inaltéré ; le chauffage du 3e jour a suffi à tuer tous ces éléments vivants. Si le chauffage équivalent du 1er jour n'y a pas réussi, c'est assurément que les germes n'étaient pas identiques dans les deux cas, c'est assurément que la liqueur au début renfermait des éléments qui ont disparu durant ces 3 jours et qui étaient les plus résistants. N'est-on pas autorisé à supposer que les microbes existent, ou tout au moins que certains microbes existent sous *deux formes biologiques, l'une détruite à* 58-60°, *l'autre résistant à cette température,* et que la *forme résistante* se transforme spontanément en la *forme fragile* ?

Cette conception trouve un solide appui dans les observations morphologiques : les bactériologistes ont montré que certains microbes subissent, dans des conditions qu'ils ont précisées pour chaque espèce, une modification qui conduit à la formation d'une *spore,* c'est-à-dire d'une forme nouvelle, capable, dans des milieux et conditions convenables, de se transformer en un microbe identique à celui dont elle provient.

On a comparé la *spore microbienne* à la *graine végétale* : cette assimilation ne nous paraît pas heureuse, et voici pourquoi. Les graines dérivées d'un végétal sont d'ordinaire nombreuses et servent à la multiplication de l'espèce ; la spore dérivée d'un microbe est généralement unique (la double spore est exceptionnelle) et ne joue pas de rôle dans sa multiplication. Et puis la production des graines ne s'accomplit bien que si le végétal est dans des conditions biologiques favorables, tandis que la production de la spore par les microbes semble n'avoir lieu que si les conditions ambiantes leur sont défavorables. Il n'est donc pas exact de dire que la spore est une graine de microbe ; tout au plus pourrait-on dire que la spore microbienne, comme la graine végétale, résiste mieux que son générateur aux agents de destruction ou d'altération, et qu'elle conserve en elle la vie dans des conditions où son générateur l'eût perdue. Il nous semble préférable de considérer *le microbe et sa spore* comme *deux formes d'un même être,* la première correspondant à la *vie active,* avec les modifications qu'elle engendre dans l'être et dans le milieu, la seconde correspondant à la *vie latente* (ou à la *mort apparente*).

Cette considération du microbe et de sa spore nous permet de compléter la première remarque présentée. Le microbe, sous sa forme végétative, est aussi fragile ou presque aussi fragile que le végétal ou

l'animal vis-à-vis de la chaleur : il est tué à une température inférieure à 60° ; il rentre dans la loi commune aux êtres vivants. Ce qui échappe à cette loi, c'est la spore : c'est elle qui résiste à 100° en milieu aqueux ; c'est elle qui résiste à 120° en milieu sec.

Ces constatations nous amènent à accorder dans les études de microbiologie une importance considérable à la spore, et à distinguer de la façon la plus rigoureuse ce qui, dans le monde microbien, est capable de produire la spore, ou mieux de prendre la forme de spore, ce qui, par conséquent, est remarquablement résistant, de ce qui ne produit pas la spore, et qui dès lors est beaucoup plus fragile.

D'où viennent donc les microbes des infusions, puisqu'ils ne s'y produisent pas spontanément ?

Nous avons déjà constaté à plusieurs reprises que l'air renferme des microbes : les liquides stérilisés en flacons clos et remplis d'air filtré sur coton, ou fortement chauffé, se conservaient indéfiniment stériles ; mais ils se peuplaient de microbes quand on ouvrait les flacons à l'air, en sectionnant transversalement leur col.

On peut démontrer encore autrement la présence de microbes dans l'air. Dans un tube de verre, plaçons une bourre de *coton-poudre* (le coton-poudre a les mêmes propriétés filtrantes que l'ouate à l'égard des microbes) ; relions l'une des extrémités du tube à une trompe aspiratrice, de façon à faire filtrer de l'air à travers la bourre cotonneuse. Quand celle-ci commence à noircir, on arrête l'aspiration ; on retire la bourre du tube et on la laisse tomber dans un mélange à parties égales d'alcool et d'éther ; le coton-poudre se dissout, les particules en suspension restent, et bientôt on peut en prélever pour l'examen microscopique au fond du vase où elles se déposent peu à peu. Parmi elles, on reconnaît des poussières minérales, grossières et irrégulières, des débris divers d'origine animale ou végétale, des spores de cryptogames et des microbes.

Ces microbes de l'air sont ou peuvent être vivants ; on le démontre en procédant comme suit. On introduit une liqueur organique dans un ballon à long col, qu'on stérilise à l'autoclave sans le fermer, mais en tenant le col très fortement incliné, presque horizontal. On introduit dans le col à quelques centimètres de l'orifice une bourre de coton chargée des poussières atmosphériques qu'elle a retenues (même préparation que ci-dessus avec le coton-poudre) ; et on bouche le ballon à l'ouate. Le liquide contenu dans le ballon demeure stérile aussi longtemps que le ballon demeure en l'état. Si l'on redresse

le ballon pour faire tomber la bourre dans le liquide, celui-ci ne tarde pas à être envahi par des microbes innombrables.

Mais si *l'air contient des microbes et des microbes vivants*, il en contient généralement *une quantité minime*, variable d'ailleurs suivant les lieux où l'on prend l'échantillon d'air. Supposons que dans une série de ballons de 300 à 400 c.c. à col terminé en pointe effilée, on introduise 100 c.c. p. ex. d'une liqueur organique, eau de levure, bouillon, etc., qu'on fasse bouillir pour chasser l'air, qu'on ferme à la lampe la pointe du col en pleine ébullition et qu'on stérilise à l'autoclave à 120°. Imaginons que, saisissant le ballon par la partie renflée, flambant la pointe dans la flamme d'une lampe à alcool, on l'élève au-dessus et en avant de soi, et qu'avec une pince également flambée on brise la pointe du tube : l'air rentre dans le ballon, entraînant avec lui les microbes qu'il tient en suspension. Fermons immédiatement la pointe à la lampe et gardons les ballons à 30-40° : les microbes amenés avec l'air se multiplient et altèrent la limpidité du liquide, grâce à quoi il est facile de juger du développement microbien.

Or, quand on fait cet essai avec une série de ballons, une vingtaine, p. ex., on constate que tous les ballons ne se peuplent pas ; il y en aura 12 qui se troubleront p. ex et 8 qui demeureront limpides, donc stériles. C'est donc qu'on peut trouver dans l'atmosphère des volumes de 300 c. c. qui ne contiennent pas de microbes vivants. Quant aux ballons qui se sont peuplés, ils ne se présentent pas tous avec la même apparence : on en voit où le liquide demeure clair, mais qui se recouvrent d'une pellicule blanchâtre ou grisâtre ; on en voit où se distingue un îlot de moisissures, vertes ou blanches, gagnant peu à peu en étendue ; on en voit dont toute la masse se trouble, on en voit enfin qui prennent une coloration nouvelle, etc. Et si on examine au microscope le contenu d'un de ces ballons, on n'y reconnaît que des germes d'une même espèce. N'est-ce pas là la preuve qu'un seul microbe ou tout au moins que des microbes d'une seule espèce se trouvaient dans les 300 c. c. d'air qui ont pénétré dans le ballon ? Quelques ballons seulement, peu nombreux le plus souvent, renferment plusieurs formes microbiennes.

On a amorcé jadis, à l'aide de cette méthode l'étude des microbes de l'air et notamment établi les règles les plus générales fixant les rapports de leurs nombres dans diverses conditions du milieu.

En général, le nombre des microbes de l'air est d'autant moindre que l'air est plus calme (local clos), que les poussières s'y sont plus longuement déposées et n'ont pas été remises en suspension par des mouvements imprudents des expérimentateurs, d'autant moindre que l'air est plus sec et plus ensoleillé, d'autant moindre qu'on s'élève plus dans l'atmosphère.

De la *rareté des microbes dans l'air* dérive cette conclusion que *la contamination des milieux organiques ne doit être rapportée que pour une faible part à l'air ambiant,* et que ce sont les poussières déposées sur les objets divers, sur ou dans les ballons et tubes p. ex., ou l'eau, qu'il faut incriminer pour la part prépondérante. Et, s'il est bon, quand on procède aux stérilisations de veiller à éliminer les microbes de l'air, il importe surtout de s'occuper des *microbes des poussières* ; il importe de stériliser surtout les liquides, les instruments, les vases employés. La pratique chirurgicale, hygiénique et industrielle justifie ces recommandations suggérées par l'étude des microbes de l'air.

Les eaux renferment des microbes, en quantités extrêmement variables du reste, suivant leur origine et les conditions dans lesquelles elles se trouvent. L'étude des *microbes des eaux* est du ressort de l'hygiène pratique et se réduit essentiellement à des questions de numération, de détermination ou de stérilisation, c'est-à-dire à des questions de technique qui ne rentrent pas dans le cadre de cet ouvrage.

Le *sol,* et surtout le *sol cultivé* renferme un nombre immense de microbes. Leur étude est essentiellement du ressort de l'agronomie, et, comme celle des microbes des eaux, se ramène surtout à des questions de déterminations et de numérations. Il nous suffira d'en avoir noté l'existence.

La *dissémination des microbes* se fait essentiellement par les eaux courantes, qui entraînent avec elles les microbes qu'elles renferment, et par l'air dans lequel les vents soufflant à la surface du sol et des eaux mettent en suspension les poussières microbiennes, ou les gouttelettes d'eau chargées de microbes. On peut dire que les microbes de l'air sont en général les microbes des eaux ou du sol, mobilisés et voyageant.

CHAPITRE II

LES CONDITIONS ET LES MANIFESTATIONS GÉNÉRALES DE LA VIE DES MICROBES

SOMMAIRE. — Conditions générales physiques et chimiques de la vie des microbes. — De la diversité des microbes. — Action de la chaleur sur les microbes des infusions; action du froid et de la chaleur : températures minima, maxima, optima. — Mort des microbes sous l'influence de la chaleur : distinction des microbes et des spores. — Etude des cultures pures. — Action de la lumière sur les microbes : difficultés du problème. — Composition chimique du milieu et développement des microbes; distinction des substances alimentaires et des substances non-alimentaires. — Etude de l'Aspergillus niger et du liquide de Raulin : influence des sels de zinc et des sels de fer, et remarques à la suite de cette étude; influence des sels d'argent et remarques à ce propos. — Un mot sur les antiseptiques; délicatesse de leur étude.

Principales manifestations vitales des microbes. — La mobilité microbienne et ses conditions; les déplacements microbiens, tropismes, taxismes, chimiotaxisme. — Multiplication microbienne et sa grandeur; les spores et leur signification; leurs propriétés. — Nutrition microbienne; parallèle de la nutrition des animaux et végétaux et de la nutrition des microbes. — Composition des corps microbiens. — Nutrition azotée; les deux sources; le microbe minéralien. — Nutrition ternaire de l'Aspergillus : sucre et acide tartrique; quelques réflexions à propos de cette étude. — Digestion microbienne. — Variabilité des microbes. — Exemples de changements morphologiques et biologiques. — Adaptation des microbes aux conditions qui leur sont imposées.

Les microbes sont des êtres vivants : certaines conditions physiques et chimiques ne sont-elles pas nécessaires

à la conservation et à la manifestation de leur vie, comme certaines conditions physiques et chimiques très strictes sont indispensables à la conservation et à la manifestation de la vie des animaux et des végétaux ?

Le grain de blé ne germe que s'il est dans un milieu humide et à une température comprise entre des limites empiriquement déterminables ; la plantule de blé ne se développe normalement et n'évolue jusqu'à la formation de l'épi et à la maturation des grains que si la température est convenable, si l'atmosphère renferme un peu d'acide carbonique, si le sol contient telles matières organiques azotées et tels sels minéraux, si la lumière solaire vient éclairer ses parties aériennes.

Le grain de blé ne germe pas en milieu sec ou au voisinage de zéro : il est alors en état de *mort apparente* ou de *vie latente*, attendant, pour manifester sa vie, que les conditions défavorables actuelles aient fait place aux conditions indispensables notées tout à l'heure. La plantule s'étiolerait si l'air atmosphérique était totalement privé d'acide carbonique, si le sol était dépourvu de matières azotées : ce serait la *maladie*, le *dépérissement*, finalement *la mort*. La plantule se dessécherait si l'air était trop chaud, si le sol ne renfermait plus d'eau. Ce serait encore la *maladie*, l'*affaiblissement* et la *mort* si des substances, qu'on réunit sous le nom général de *poisons*, étaient incorporées au sol ou mélangées à l'air atmosphérique.

Quelles sont donc les *conditions de milieu* indispensables à la vie, au développement, à la multiplication des microbes ; quelles sont les conditions qui en déterminent la *mort apparente*, ou la *maladie*, la *faiblesse* et la *mort réelle?*

Une *remarque* tout d'abord. Nous avons tendance à considérer les microbes comme très semblables entre eux, en raison de ce que nous n'avons pas de moyens assez précis pour en reconnaître la *structure intime* et par suite pour en saisir la variété. Or ils sont peut-être aussi différents que peuvent l'être les animaux et végétaux terrestres et marins. Il ne doit donc pas être plus facile, pour eux, que pour les animaux et végétaux, de fixer en bloc, avec quelque précision numérique les conditions nécessaires à leur développement ou les résultats de l'action exercée sur eux par les divers agents physiques ou chimiques que nous pouvons employer dans nos études.

Il est nécessaire de rester dans les *généralités*, et, si l'on veut énoncer quelques lois d'ensemble, de ne pas oublier qu'il peut y avoir des

exceptions, parfois de nombreuses, souvent de grandes exceptions. *Une étude microbiologique prétendant à l'exactitude, doit porter sur une espèce microbienne, et non pas sur tous les êtres de ce vaste embranchement.* Toutefois, comme en toute étude biologique il est utile d'avoir des *directions*, nous allons examiner les problèmes que nous venons de poser d'une façon assez *générale* et dès lors *approximative* : nous arriverons à des résultats précieux, mais qu'il ne faudra pas considérer comme intangibles et absolus, et que, tout au contraire, il faudra ensuite corriger et atténuer pour les concilier avec les résultats que fournira l'étude particulière des diverses espèces.

Nous prendrons comme exemples les *microbes* qu'on trouve dans les *infusions organiques en putréfaction*, et nous jugerons de leur vie ou de leur mort, de leur faiblesse ou de leur puissance en suivant la marche de la putréfaction et en tenant compte soit de la *précocité de son apparition*, soit de l'*intensité de son développement*.

A basse température, p. ex. au voisinage immédiat de 0°, les microbes ne manifestent leur vie ni par leur multiplication, ni par des actions chimiques exercées sur les éléments du milieu. Les liquides organiques ne se putréfient pas à 0° : la congélation ou le refroidissement de ces liquides au voisinage immédiat de 0° assurent leur conservation intégrale, en mettant en état de mort apparente les microbes qui y sont contenus ; mais non pas leur stérilité, car ces liquides subissent la putréfaction, quand, après les avoir refroidis ou congelés, et maintenus même très longtemps à ces températures basses, on les ramène à une température compatible avec le développement des microbes, même si toutes précautions ont été prises pour qu'aucun microbe extérieur ne puisse souiller, durant ou après le réchauffement, le liquide antérieurement refroidi. On peut même *refroidir* très fortement *au-dessous de 0°* les liquides organiques, les amener après congélation à — 20° et au delà sans obtenir le plus souvent d'autres résultats que ceux qui viennent d'être notés pour le refroidissement à 0°. *Le froid s'oppose à la putréfaction en mettant en état de mort apparente les microbes, mais il ne stérilise pas.*

Si, à partir de 0°, *on élève la température* des liquides organiques, on constate que la vie microbienne avec sa double manifestation de développement des microbes et de

modification du milieu (et en particulier de putréfaction) ne tarde pas à se révéler. A une température généralement comprise entre 5 et 10°, les liquides organiques se peuplent lentement mais progressivement. A une température plus élevée, l'envahissement microbien est beaucoup plus rapide et ses conséquences chimiques plus précoces et plus accentuées, et d'autant plus que la température est plus élevée, jusqu'à un *optimum* qui ne diffère généralement pas beaucoup de 40° (37 à 42°). Au-delà de cette température, la vie microbienne se ralentit, et, pour une élévation de quelques degrés seulement cesse de se manifester (vers 42 à 45° en général). Ces faits nous amènent à considérer des *températures minima, optima et maxima* compatibles avec l'action vitale microbienne, les microbes se développant et modifiant le milieu quand celui-ci est à une température comprise entre le minimum et le maximum, et se développant d'autant mieux et modifiant d'autant plus le milieu que la température de celui-ci est plus voisine de l'optimum.

Si une liqueur organique (eau de levure, par exemple) a été portée à 60°, c'est-à-dire à une température supérieure au maximum compatible avec les manifestations vitales des microbes qui la peuplent, et si on ramène cette liqueur à 35-40°, p. ex., on constate que la putréfaction ne tarde pas à s'établir et les microbes à se multiplier. En faut-il conclure qu'au delà de la température maxima les microbes ont été mis en état de mort apparente et non pas réellement tués ? Ou faut-il imaginer que les microbes, sous leur *forme végétative,* c'est-à-dire *active* (se multipliant et produisant des transformations chimiques du milieu), ont été tués, tandis que les microbes, sous leur *forme spore,* c'est-à-dire *inerte*, ont résisté, attendant pour régénérer les microbes sous forme végétative que les conditions ambiantes soient redevenues favorables. Il est difficile, pour ne pas dire impossible de choisir entre ces hypothèses, quand on expérimente sur les liquides peuplés de microbes divers ; on y réussit mieux quand on étudie les propriétés des cultures de microbes d'une seule espèce, ou, comme on dit, des *cultures pures.*

Les *cultures pures* obéissent aux lois générales que nous venons de reconnaître. Toutes sont en état de mort apparente pour une température assez basse, généralement voisine de 0°; mais le minimum de température compatible avec le développement microbien varie d'uuc espèce à l'autre : tantôt il est assez voisin de 0°; tantôt il est de quelques 8 à 10° supérieur à 0°; parfois même il est plus élevé et exceptionnellement notablement plus élevé. Toutes se développent d'autant mieux que la température s'élève davantage jusqu'à un optimum qui généralement est compris entre 37 et 40°; mais, ici encore, on note quelques exceptions pour lesquelles l'optimum est inférieur ou supérieur (telle espèce, par exemple, aura son optimum à 25-30°; telle autre à 42-45°). Toutes sont paralysées dans leur développement et dans leur activité chimique à partir d'une température maxima, qui, très généralement, est de quelques degrés supérieure à 50°, en tous cas inférieure à 58-60°; mais exceptionnellement quelques espèces vivent encore à des températures beaucoup plus élevées, dépassant même 70° (on désigne ces espèces sous le nom de *microbes thermophiles*).

Si les études relatives à l'action de la chaleur sont faites sur des cultures pures, on reconnaît que les espèces *non-sporogènes* sont réellement tuées à la température maxima, et que le liquide qui les contient est totalement stérilisé par chauffage à cette température (et en général à 60°); on reconnaît d'autre part que les espèces *sporogènes* ne sont pas supprimées dans les liqueurs qui les contiennent par chauffage à cette température (et en général à 60°); il faut les chauffer plus fort pour détruire la spore en même temps que la forme végétative : l'expérience permet, pour chaque espèce, de fixer cette température mortelle pour la spore; elle varie d'une espèce à l'autre. On peut dire que la température mortelle pour la spore, quelle qu'elle soit, n'est pas supérieure à 120° (maintenue 1/2 heure) en milieu humide, ni à 160° (maintenue 1/2 heure) à l'état sec. C'est pourquoi nous avons noté au chapitre précédent que, pour stériliser un liquide organique à coup sûr, il faut le porter 1/2 heure à 120°, et pour stériliser des instruments ou appareils secs à coup sûr, il faut les porter 1/2 heure au four à flamber à 160-180°.

Il convient de noter encore que les températures minima, optima

et maxima, correspondant au développement d'une espèce donnée, n'ont pas des valeurs immuables : elles dépendent en effet de la composition et en particulier de la réaction du liquide constituant le milieu ambiant. Les nombres que fournissent les expérimentateurs ne sont donc rigoureusement exacts et valables que pour l'espèce considérée et pour le milieu employé.

La *lumière* et en particulier la *lumière solaire* agit-elle sur les microbes, soit pour favoriser, soit pour ralentir ou arrêter leur développement ? La solution du problème, simple en apparence, est très délicate en réalité, car il importe de prendre telles dispositions qui permettront d'éliminer totalement les *rayons calorifiques* accompagnant les *rayons lumineux* (afin de ne pas considérer comme conséquence de l'*insolation* ce qui serait conséquence de l'*échauffement*); et de distinguer ce qui relève, quand il s'agit d'une action exclusivement lumineuse, de la *modification de composition du milieu* par la lumière et ce qui relève d'une *modification des microbes*.

Pour réaliser ces impérieux desiderata, on fait passer la lumière employée à travers une solution capable d'absorber ses rayons calorifiques et de la rendre *lumière* rigoureusement *froide*. D'autre part, on soumet à l'action de la lumière les microbes seuls (soit après évaporation du bouillon, soit en culture) et on les transporte ensuite en un milieu nutritif non-insolé pour y suivre leur développement.

Quand on procède ainsi, on constate d'une façon générale que la lumière agit sur les microbes et sur leurs spores pour les rendre moins facilement cultivables, et même, dans des conditions convenables d'intensité lumineuse, de durée d'éclairement et de composition du milieu, tout à fait incultivables.

La durée de l'éclairement nécessaire pour stériliser une liqueur microbienne varie considérablement suivant que le microbe peut avoir ou ne peut pas avoir de spores, suivant l'espèce microbienne, suivant la nature de la lumière (ce sont les rayons chimiques seuls, bleus ou violets qui agissent sur les microbes), suivant son intensité, suivant la composition chimique du milieu. C'est dire qu'aucun nombre ne peut être cité ; chaque cas particulier doit comprendre une détermination propre, les résultats obtenus n'étant valables que dans les conditions rigoureuses qui ont été réalisées dans l'essai.

La *composition chimique du liquide* dans lequel se développent les microbes exerce une influence parfois considérable sur leur multiplication et leur activité vitale. La putréfaction banale des liquides organiques, par exemple, liée à la pullulation de nombreux microbes s'établit plus

vite et plus énergiquement en un milieu légèrement alcalin qu'en un milieu neutre, en un milieu neutre qu'en un milieu acide, toutes autres conditions expérimentales, physiques ou chimiques, étant identiques.

En cette étude, il paraît au moins utile de grouper en deux catégories les matières constituantes du milieu ; — les unes représentant les *aliments du microbe*, c'est-à-dire les substances qu'il emploie à la formation, à l'entretien, à la réparation de son protoplasma, ou aux dépens desquels il se fournit de l'énergie dont il a besoin pour vivre et se développer ; — les autres, qui ne sont pas des aliments, n'étant assimilables ni directement, ni après transformation.

L'expérience démontre que les microbes subissent ou peuvent subir plus ou moins fortement l'influence d'éléments appartenant à ces deux catégories de substances : la rareté ou l'abondance d'une substance alimentaire, son état physique, son degré de simplification chimique jouent un rôle généralement important dans le développement des cultures ; et, d'autre part, la présence ou l'absence de certaines *substances minérales inassimilables* peut accélérer ou ralentir, exalter au maximum ou arrêter totalement un développement microbien.

Il convient, au lieu de rester dans les généralités imprécises, d'examiner un cas particulier, celui de l'*Aspergillus niger*, cultivé sur le *liquide de Raulin*, p. ex., (malgré qu'il s'agisse d'une *moisissure* et non d'un microbe), parce que cette étude faite avec une admirable maîtrise a conduit à des conclusions comportant des enseignements généraux de la plus évidente importance.

L'Aspergillus niger est une moisissure qui pousse bien sur des tranches de citron, ou sur du pain imbibé de vinaigre, ou sur l'eau de levure acidulée, exposés à l'air. Il est constitué par des filaments grêles enchevêtrés se développant dans le milieu nourricier et desquels s'élèvent au-dessus de ce milieu de petits prolongements verticaux, portant à leur extrémité sphérique des files de spores noires. Or on possède une formule de liquide nutritif (*liquide de Raulin*), qui convient si merveilleusement bien à cette moisissure qu'elle s'y produit infiniment plus rapidement et abondamment que sur tout autre milieu naturel, de ceux sur lesquels on voit se développer spontanément ce micro-organisme.

Le liquide de Raulin a la composition suivante :

Eau : 1 500 grammes.

	GRAMMES		GRAMMES
Sucre candi.. . . .	70	Carbonate de magnésie..	0,40
Acide tartrique.. . .	4	Sulfate d'ammoniaque. .	0,25
Nitrate d'ammoniaque.	4	Sulfate de zinc. . . .	0,07
Phosphate d'ammoniaque.	0,60	Sulfate de fer. . . .	0,07
Carbonate de potasse. .	0,60	Silicate de potasse. . .	0,07

Versons ces 1 500 c. c. de liquide dans une cuvette rectangulaire de 28 et 25 cm. de côté : le liquide y forme une couche de 3 cm. d'épaisseur. Plaçons à l'étuve à 37°, recouvrons d'une lame de verre, sans fermer hermétiquement pour ne pas isoler de l'atmosphère ; semons des spores d'Aspergillus sur ce liquide. Au bout de 24 h., la surface du liquide est recouverte de filaments blanchâtres, formant membrane de plus en plus épaisse. Après 48 h., la membrane devient jaunâtre, puis brun foncé ; après 3 jours, elle est noire. A ce moment, enlevons cette membrane très consistante, serrons-la entre les doigts, pour en exprimer le liquide, étalons-la sur une plaque de verre, desséchons-la à 100° et pesons-la. Une seconde récolte pousse d'ailleurs sur le liquide et est prélevée 3 jours plus tard et traitée de même. Les deux récoltes réunies représentent approximativement 25 gr. dans les conditions notées ; le liquide de Raulin est d'ailleurs à peu près épuisé par ces deux récoltes.

Dans le liquide de Raulin, il y a des *matières alimentaires*, grâce auxquelles sont constitués les tissus de la moisissure : le sucre, l'acide tartrique, les sels d'ammoniaque. Mais il y a aussi des *éléments minéraux*, qui, sans doute, ne sont pas constituants nécessaires de la moisissure : le sulfate de zinc et le sulfate de fer, par ex. Notons qu'on peut obtenir une récolte d'Aspergillus sur des liquides de Raulin privés de ces sels, tandis qu'on ne saurait supprimer les sels ammoniacaux ou le sucre, sans que le liquide devienne rigoureusement stérile.

Laissant de côté les matières alimentaires, étudions le rôle de ces éléments minéraux.

Réalisons un *liquide de Raulin sans sel de zinc*, mais, pour le reste, de composition normale : la récolte, faite comme il a été dit, ne représente plus que 2,5 gr. au lieu de 25 gr., soit 1/10. N'est-il pas remarquable que la présence dans la liqueur de 1/20 000 de sulfate de zinc ait de si grandes et si inattendues conséquences ? — Réalisons un *liquide de Raulin sans sel de fer*, mais, pour le reste de composition normale, la récolte obtenue, les conditions demeurant les

mêmes, n'est que de 8 gr. 5 soit à peu près le tiers de ce qu'elle était sur liquide ferrugineux. — Si on supprime la *potasse*, la récolte tombe à 1 gr. (1/25 de récolte sur liquide normal) ; si on supprime la *magnésie*, elle tombe à 0 gr. 25 (1/100 de récolte sur liquide normal).

La présence des matières minérales dans le liquide de Raulin, dans les proportions adoptées tout au moins, constitue donc une condition favorable au développement de l'Aspergillus, l'influence différant d'un sel à l'autre dans de considérables proportions.

Nous ne saurions dire par quel mécanisme ces matières minérales interviennent dans la prospérité d'une culture : nous notons provisoirement le fait sans pouvoir l'interpréter.

Supposons qu'on ait cultivé l'Aspergillus sur un liquide de Raulin ne contenant pas de sel de zinc ; on a recueilli en deux fois les quelques 2 gr. 5 qui ont poussé en 6 jours. On ajoute alors au liquide les 70 mgr. de sulfate de zinc qui lui manquaient : on obtient une culture aussi vigoureuse et abondante que si elle avait poussé sur un liquide de Raulin n'ayant pas encore servi, et ce résultat ne saurait surprendre. Mais supposons qu'on ait cultivé l'Aspergillus sur un liquide de Raulin ne contenant pas de sel de fer : on a recueilli en deux fois les 8 gr. 5 de récolte qui ont poussé en 6 jours. On ajoute alors au liquide les 70 mgr. de sulfate de fer, qui lui manquaient : on n'obtient qu'une récolte éminemment grêle et peu abondante, comme on en eût obtenu une si on l'avait recueillie sur un liquide non ferrugineux. Voilà un résultat inattendu : la première culture n'a pas pu priver le liquide de matières alimentaires au point de le rendre presque stérile, car elle a été peu abondante. La liqueur semble renfermer maintenant quelque substance qu'elle ne renfermait pas quand elle était neuve, substance qui ne se produit pas dans les liqueurs sans zinc, mais qui se forme dans les liqueurs sans fer, et qui constitue une condition défavorable au développement de l'Aspergillus.

Ainsi ces deux sels de zinc et de fer qui, chimiquement, représentent des composés analogues, ne sont pas équivalents en microbiologie ; le sel de zinc introduit dans la liqueur une condition favorable au développement ; le sel de fer intervient autrement ; quand il est présent, l'Aspergillus ne déverse pas dans la liqueur quelque produit qui modifie défavorablement la composition du liquide nourricier et arrête le développement de la moisissure. Il ne faut donc pas, quand on fait de la microbiologie et plus généralement de la biologie, subir trop complètement la *tyrannie chimique* et conclure de l'identité ou de l'analogie chimique à l'identité ou à l'analogie d'action biologique : les faits ci-dessus rapportés nous invitent à la prudence.

Autre remarque. L'Aspergillus se constitue aux dépens des éléments du milieu qu'il transforme : une partie se fixe en ses tissus ; des rési-

dus sont vraisemblablement abandonnés au milieu ambiant: en milieu ferrugineux, ces déchets déversés dans le milieu ne sont pas défavorables à la vie de la moisissure ; en milieu non ferrugineux, ils sont nettement défavorables. Les résultats chimiques de l'activité vitale de l'Aspergillus varient donc suivant la composition du milieu. C'est dire que *les actes chimiques qui accompagnent la vie microbienne ne sont pas rigoureusement immuables* ; et, s'il ne nous est pas permis, en raison de l'insuffisance des expériences, de dire que ces actes sont variés à l'infini, nous pouvons au moins conclure qu'ils peuvent être divers, et assez divers pour que l'on puisse aisément le constater. Voilà qui nous fait toucher du doigt la *complexité des phénomènes de la vie, même chez les êtres les plus simples,* auxquels nous aurions tendance à attribuer les règles de conduite les plus strictes et les moins nombreuses. Et cela nous met en garde contre la promulgation de lois qui ne reposeraient que sur des observations superficielles, partielles ou spéciales.

Dernière remarque. En étudiant l'alimentation azotée ou hydrocarbonée des microbes, on constate que les espèces voisines, ou même les genres voisins ont très approximativement les mêmes besoins : les divers Aspergillus, les Penicillium, en général les moisissures se développent également bien, ou à peu près, sur les fruits acides ; et, ceux-ci, abandonnés à l'air, se recouvrent de taches de moisissures de diverses formes et couleurs, sans qu'il y ait de coutume prédominance d'une espèce.

Avec le liquide de Raulin exposé à l'air non ensemencé, il en est autrement : en général, l'Aspergillus seul s'y développe en abondance, non pas que le liquide soit incapable de nourrir d'autres moisissures (on s'assure qu'il les nourrit fort bien en l'ensemençant avec des spores diverses), mais parce que le développement de l'Aspergillus y est si précoce, si abondant, si rapide que les autres espèces ne trouvent plus place pour vivre à côté de lui. Ces conditions favorables sont créées ici par ces matières minérales, qui participent à la constitution du liquide de Raulin, et dont la nature et les propriétés sont celles qui conviennent à cette moisissure à l'exclusion des autres. Et si nous n'avons guère d'expériences équivalentes à celles-ci, il n'est sans doute pas absurde d'imaginer qu'on pourrait trouver pour un autre Aspergillus ou pour une autre moisissure, tels sels minéraux ou telles combinaisons de sels et telles proportions de ces sels qui réalisent pour ces autres espèces ce qui a été réalisé pour l'Aspergillus niger par les sels du liquide de Raulin. Si, pour chaque espèce microbienne, nous avions fixé ces conditions spéciales, nous aurions fourni à la technique de l'isolement des espèces microbiennes un précieux instrument.

Nous avons reconnu dans les liquides de Raulin non-ferrugineux

sur lesquels avait poussé une maigre récolte d'Aspergillus la présence d'une substance dérivée de l'activité vitale de la moisissure et qui est dévaforable à son développement. Nous pouvons trouver dans notre arsenal chimique des produits également défavorables à ce développement.

Supposons qu'à 1 500 c. c. de liquide de Raulin, nous ajoutions 1 mgr. de *nitrate d'argent* soit 1/1 500 000 et que nous ensemencions le liquide ainsi modifié avec des spores d'Aspergillus; nous constatons que celles-ci ne s'y développent pas dans des conditions générales où le liquide de Raulin sans argent donne les merveilleuses cultures dont nous avons ci-dessus parlé. Notons que si, au lieu d'ajouter cette très minime proportion de sel d'argent avant l'ensemencement des spores, nous avions laissé celles-ci germer, et si nous avions ajouté la liqueur argentique alors que la germination était chose accomplie, 24 h. après l'ensemencement, p. ex., la culture se fût produite sans retard et sans déchet (au moins pour la dose indiquée). Ces intéressantes observations conduisent à formuler deux remarques.

D'abord, le sel d'argent, dans la proportion de 1/1 500 000 ne s'oppose à la germination des spores, que si ce sont des spores d'Aspergillus niger; il ne s'oppose pas à la germination des spores des espèces et genres voisins : il est dans la série des agents défavorables ce que les sels de zinc et de fer sont dans la série des agents favorisants : c'est-à-dire spécifique vis-à-vis de l'Aspergillus niger. On comprend sans peine combien il serait avantageux que nous connussions pour chaque microbe une substance spécifique agissant comme antagoniste sur lui et sur lui seul, et tout le parti qu'on pourrait tirer d'une telle connaissance, et dans la technique microbiologique de laboratoire et dans le traitement rationnel des maladies microbiennes.

Et puis, le sel d'argent s'oppose à la germination de la spore, mais non au développement de l'Aspergillus quand ses filaments se sont déjà formés : les conditions défavorables ne sont donc pas les mêmes pour la spore et pour la forme végétative, pour la germination et pour la croissance et la fructification. On comprend dès lors aisément que deux auteurs puissent proclamer des résultats différents, voire opposés, à la suite d'une étude identique en apparence, et quand on lit superficiellement le mémoire, mais qui en vérité est différente : si p. ex. un expérimentateur a ensemencé de spores d'Aspergillus niger le liquide de Raulin argentique, il constatera que le développement ne se fait pas ; il en conclura peut-être sans plus ample informé, que le nitrate d'argent à 1/1 500 000 est toxique pour cette moisissure ; — un autre expérimentateur a ajouté le sel d'argent au liquide alors que commence à s'étaler la lame d'Aspergillus, il constatera que le développement n'est pas entravé ; il en conclura peut-être, sans

plus chercher, que le sel d'argent n'est pas toxique à cette concentration pour l'Aspergillus. Les deux conclusions sont opposées certes, mais en apparence seulement et parce que les auteurs n'ont pas exposé avec assez de précision la nature de leurs recherches et oublié de spécifier les conditions de leur réalisation. En présence de résultats contradictoires, il importe de remonter aux faits; on trouvera la cause des différences dans les différences des conditions de l'expérience, il ne faut jamais l'oublier. Une étude dans laquelle subsiste quelque contradiction est une étude superficielle, qu'il faut reprendre en la précisant.

Après cette incursion dans le domaine des moisissures (qui n'a pas été inutile certes, car elle nous a appris bien des choses importantes), rentrons dans les généralités qui font l'objet de ce chapitre.

Certaines substances ajoutées au milieu dans lequel se développent les microbes arrêtent ce développement en tuant microbes et spores. On désigne ces substances sous le nom d'*antiseptiques*. Elles sont nombreuses et diverses, appartenant à des familles chimiques, qui n'ont pas nécessairement de ressemblances même légères. Parmi les plus employées citons : des *sels de mercure* et des *sels d'argent, sublimé, biiodure de mercure, nitrate d'argent*; les *phénols* et *crésols*; l'*aldéhyde formique*, l'*acide sulfureux*, l'*eau oxygénée*, l'*ozone*, le *chlore*, le *brôme*, l'*iode* et quelques-uns de ses composés, les *acides minéraux*, les *anesthésiques* (*éther* et *chloroforme*), le *fluorure de sodium*, etc.

L'étude scientifique des antiseptiques est minutieuse et délicate. La *dose minima toxique* dépend en effet de nombreux facteurs : l'espèce microbienne, son état actuel (forme végétative ou spore), la nature et la réaction du milieu de culture, la température, la durée de l'action.

Pour avoir oublié de fixer rigoureusement les conditions de leurs essais, pour avoir généralisé leurs résultats prématurément, les observateurs ont parfois présenté des résultats discordants; pour avoir appliqué sans tenir compte des variations de la puissance antiseptique selon les conditions ci-dessus notées, les techniciens ont parfois subi de regrettables échecs.

Nous n'oublierons pas que les antiseptiques peuvent agir sur le milieu de culture et en altérer profondément les éléments: les sels de métaux lourds (mercure, argent) p. ex. forment avec les protéines

des composés métallo-organiques insolubles et inutilisables par les microbes ; l'aldéhyde formique, le chlore, l'iode, les acides forment avec ces mêmes protéines des composés divers, et il importe, en maintes études scientifiques de tenir compte de ces importantes transformations.

Nous n'oublierons pas non plus que les antiseptiques sont en général des *poisons protoplasmiques* et non pas seulement des *poisons microbiens,* et qu'ils peuvent agir comme toxiques sur les éléments de l'organisme, quand on s'efforce, en les appliquant en quelque lieu du corps d'y déterminer la mort des microbes qui s'y sont installés. L'usage des antiseptiques dans la pratique des traitements thérapeutiques est éminemment délicate, et, dans chaque cas particulier, le clinicien aura à choisir l'antiseptique convenable, à la dose convenable, c'est-à-dire celui qui pourra remplir son rôle antimicrobien sans nuire aux éléments du corps, avec lesquels il se trouve en contact, d'une façon grave et irrémédiable.

— Les microbes sont vivants et manifestent leur vie par des actes divers, parmi lesquels nous retiendrons les suivants. Ils se meuvent, ou, tout au moins, un certain nombre d'entre eux se meuvent ; ils se reproduisent et se multiplient ; ils se nourrissent, assimilant et désassimilant ; ils digèrent, ils absorbent, ils transforment et désagrègent les éléments matériels du milieu et ceux de leur protoplasma ; ils réagissent aux influences exercées par le milieu extérieur en se modifiant morphologiquement ou physiologiquement ; ils s'adaptent aux conditions nouvelles dans lesquelles ils doivent vivre, etc.

Parmi les microbes, il en est qui peuvent se mouvoir ; d'autres sont tout à fait immobiles. Ceux qui sont mobiles présentent tantôt des *mouvements étendus et rapides* et qui les font progresser vite dans le milieu, tantôt des *mouvements limités et rares* et qui ne leur permettent de changer de place qu'avec une désespérante lenteur ; parmi les premiers, citons les spirilles ; parmi les seconds, les bactéries en général.

On a décrit, chez maints microbes, de fins prolongements qu'on a assimilés aux *cils vibratiles,* et qui représenteraient des *organes de motilité* : leur forme, leur nombre, leur étendue, leur distribution varient considérablement d'une espèce à l'autre, mais beaucoup de micro-

bes, même parmi ceux qui sont mobiles, n'ont pas révélé la présence de cils.

Pour une même espèce microbienne, la motilité varie avec les conditions générales du milieu ; elle est augmentée par la chaleur et d'autant plus que la température se rapproche plus de l'optimum thermométrique de végétation correspondant à l'espèce considérée ; elle est diminuée par le refroidissement et supprimée pour une température suffisamment abaissée ; elle est également diminuée puis supprimée pour une élévation de température faible, au delà de l'optimum. Elle dépend de la viscosité du liquide de culture, ou plus généralement de la consistance du milieu ; elle dépend aussi de la composition chimique de ce milieu, de sa richesse en oxygène, etc., etc.

Bref, la diversité la plus grande règne en la matière; l'étude de la motilité des microbes ne peut être faite avec quelque précision que sur une culture pure, c'est-à-dire sur des microbes d'une espèce bien déterminée. Mais il n'y a dans cette diversité rien qui puisse surprendre, car les microbes représentent un embranchement très vaste, et les zoologistes répéteraient sans doute, sans y changer grand chose, tout ce que nous venons de dire pour les microbes, et sans préciser davantage, s'il s'agissait de protozoaires.

Parmi les mouvements microbiens, mieux vaudrait dire les *déplacements,* il en est qui méritent une considération spéciale ; ce sont les *tropismes* ou *taxismes,* c'est-à-dire ces transports de microbes sous des influences diverses, et en particulier les *chimiotaxismes,* c'est-à-dire les manifestations motrices des microbes mobiles dans un sens donné sous l'influence d'actions d'origine chimique.

Si, par exemple, on plonge dans une liqueur organique renfermant des microbes de multiples espèces une pipette capillaire chargée d'un acide organique, disons d'acide malique, pour préciser, on ne tarde pas à reconnaître que certaines espèces viennent se grouper autour de la pipette, là où l'acide malique diffusant est le plus concentré, tandis que d'autres espèces se sont éloignées de la pipette, gagnant les régions où n'a pas encore pénétré l'acide, ou tout au moins les régions qui en renferment le minimum :

ainsi se révèlent à l'observateur le chimiotaxisme positif des premières espèces et le chimiotaxisme négatif des secondes.

Les microbes se multiplient quand les conditions physiques et chimiques du milieu le permettent. La multiplication se fait par *division,* chaque microbe se scindant en deux microbes nouveaux, qui tantôt s'isolent, tantôt restent adjacents.

Il convient d'insister sur la grande *rapidité d'accroissement et de division des microbes*, dont on peut s'assurer, au moins dans certains cas, par l'examen d'une culture convenablement choisie et conservée : on a p. ex. constaté que telle bactérie se dédoublait en 2 h., chacune des bactéries issues de celle-là se dédoublant à son tour après 2 h., ce qui conduit à la production en 2 jours de 16 millions environ de bactéries et en 3 jours de 70 milliards environ.

Et cette observation conduit à cette remarque : les microbes, *infiniment petits* et par cela même *infiniment faibles,* en apparence tout au moins, affirment leur *infinie puissance* en se multipliant à l'infini en un temps très court et en *compensant l'infinie petitesse de chaque individu par le nombre infini de ses proches descendants.*

Les microbes se nourrissent comme les animaux et végétaux, c'est-à-dire empruntent au milieu les *éléments matériels* dont ils ont besoin pour augmenter leur masse en vue de leur multiplication, et reconstituer éventuellement leur protoplasma usé par les actes de vie et les *éléments énergétiques* dont ils ont besoin pour accomplir ces actes de vie.

Le *protoplasma microbien* ne diffère pas essentiellement du protoplasma animal ou végétal : des analyses approximatives de masses bacillaires, séparées du milieu sur lequel elles se sont développées et desséchées, ont conduit aux nombres suivants :

Albumine, 63,5 °/₀ ;
Hydrocarbones et cellulose, 12,2 °/₀ ;
Cendres, 11,2 °/₀ ;
Autres substances, 13,1 °/₀.

Ils doivent donc former aux dépens des éléments du milieu nutri-

tif des *albumines* et des *hydrocarbones et cellulose*, comme les animaux et végétaux. Les animaux fabriquent leurs albumines en partant des albumines alimentaires après simplification de la molécule, et décomposition en acides aminés qu'ils unissent de nouveau en une synthèse complexe ; ils fabriquent leurs hydrocarbones soit aux dépens d'hydrocarbones, soit aux dépens de protéines alimentaires. Les végétaux chlorophylliens fabriquent leurs albumines aux dépens des nitrates et des sels ammoniacaux du sol, et sans doute aussi de substances azotées mal définies présentes dans l'humus, et c'est là une différence profonde entre les végétaux et les animaux ; ils fabriquent leurs hydrocarbones et leur cellulose aux dépens de l'acide carbonique atmosphérique sous l'influence des radiations lumineuses solaires. Notons que les champignons sans chlorophylle ne sauraient emprunter leur cellulose à l'acide carbonique aérien.

Comment s'alimentent les microbes? De très nombreux microbes se développent bien sur des bouillons ne contenant, comme substances azotées, que des peptones, sur du sérum coagulé ne renfermant guère, comme substances azotées, que des protéines ; on peut donc admettre qu'ils savent, comme les animaux, transformer les protéines étrangères en protéines de leurs tissus. Ces mêmes microbes, poussant sur les mêmes milieux dans lesquels il n'y a pas d'hydrocarbones, sont capables de produire leurs propres hydrocarbones et leur cellulose ; on peut donc admettre que, comme les animaux, ils savent tirer des hydrocarbones (et de la cellulose) des protéines nutritives. Les microbes utilisent fort bien les sucres ajoutés à leur milieu de culture ; on ne saurait douter qu'ils peuvent les transformer en leurs propres hydrocarbones. En tout cela, il n'y a pas de différence entre animaux et microbes.

Mais les microbes peuvent, comme les végétaux, faire des protéines aux dépens de substances azotées non protéiques et notamment de sels ammoniacaux et de nitrates.

Nous avons vu pousser l'Aspergillus sur le liquide de Raulin, qui ne contient comme substances azotées que des sels ammoniacaux acide minéral (nitrate, phosphate, sulfate). Les 25 gr. récoltés renferment une importante proportion de protéines, qui ne sauraient dériver des minimes quantités de protéines apportées par les spore qui ont ensemencé le liquide ; c'est dire que ces protéines dérivent des sels ammoniacaux.

Les levures, comme les moisissures, mais moins facilement et moins abondamment, peuvent se développer sur des milieux purement minéraux ne contenant pas trace de protéines; les microbes proprement dits le font aussi, mais en général plus péniblement encore que les levures.

Tous ces micro-organismes, du reste, se développent sur des milieux organiques contenant les substances azotées sous forme de protéines, de sorte qu'on peut dire qu'ils tirent l'azote dont ils ont besoin soit des protéines soit des nitrates et sels ammoniacaux. Pour fixer plus sûrement ces notions dans les esprits, nous dirons que — en ce qui concerne leur nutrition azotée, les microbes vivent : 1° aux dépens des tissus animaux ou végétaux ; 2° aux dépens de matières chimiques minérales. Dans le premier cas ils sont au *régime animalien* ou *végétarien* ; dans le second, ils sont au *régime minéralien*. Il y a des microbes *minéraliens facultatifs*, lesquels peuvent s'accommoder des deux régimes. Il y aurait des *microbes minéraliens obligatoires*, qui ne se développeraient que sur les milieux exclusivement minéraux.

Ces faits de synthèse protéique à partir de l'ammoniaque par les microbes sont intéressants : ils nous apprennent que, *malgré leur petitesse*, ces êtres possèdent les *mécanismes* sans doute *complexes* qui leur permettent de faire la synthèse des protéines, de leurs protéines.

La faculté que possèdent les microbes de se multiplier sur des milieux ne renfermant pas de protéines est à noter, car cette propriété est avantageusement utilisée pour résoudre quelques-uns des problèmes, et non des moins importants que pose à l'expérimentateur le développement de ses études sur la physiologie microbienne.

Les microbes n'empruntent pas seulement au milieu ses *éléments azotés* ; ils utilisent aussi les *éléments ternaires*, hydrocarbones ou autres substances.

Le liquide de Raulin contient 70 gr. de sucre candi et 4 gr. d'acide tartrique pour 1 litre 1/2. Or, après 6 jours, dans les conditions coutumières, le sucre a disparu, l'acide tartrique a notablement diminué : l'un et l'autre, ils ont servi à l'alimentation de la moisissure.

Le *sucre* a rempli le double rôle alimentaire : il a participé à la constitution des tissus ; il a fourni de l'énergie. La récolte d'Aspergillus pèse 25 gr. ; or le liquide de Raulin, si on en élimine le sucre ne contient pas 25 gr. de matières fixes pour 1 litre 1/2 ; il en con-

tient tout au plus 10 gr. ; donc le sucre participe à la constitution matérielle de la moisissure. Si on dose le sucre du liquide à divers moments du développement, on constate qu'à l'époque de la germination des spores et de la première poussée végétale la quantité de sucre consommée représente le double du poids de l'Aspergillus produit ; bientôt elle atteint au triple de ce poids, et il en est ainsi durant la plus grande partie de la poussée ; au moment de la fructification, la proportion augmente encore et considérablement. Bref, à tout moment, le sucre est à la fois fournisseur de matière et fournisseur d'énergie. La partie du sucre qui fournit de l'énergie est brûlée et transformée en acide carbonique et eau ; la partie qui sert à la construction cellulaire forme les hydrocarbones protoplasmiques et la cellulose des membranes d'enveloppe.

Quant à l'*acide tartrique*, son rôle dans le liquide de Raulin est moins alimentaire que chimique : il donne à la liqueur une réaction acide favorable au développement de l'Aspergillus ; et la preuve que tel est bien son rôle essentiel, c'est qu'on peut le remplacer par la quantité acidimétriquement équivalente d'acide sulfurique sans changer sa valeur nutritive. Pourtant l'acide tartrique peut être un aliment : si on prépare un liquide de Raulin sans sucre, la moisissure y pousse encore, faiblement du reste mais certainement, et parallèlement l'acide tartrique diminue dans la liqueur. L'acide tartrique est également consommé dans le liquide de Raulin complet, mais seulement après la disparition du sucre, jouant le rôle d'aliment complémentaire, pour le temps de disette.

Notons que si les microbes s'accommodent généralement d'un milieu banal pour s'y développer, il en est qui sont forts exigents (le bacille tuberculeux ne pousse bien que sur milieu glycériné) ; et surtout que pour chaque espèce microbienne il existe, semble-t-il, un milieu spécifique particulièrement favorable, dans lequel le développement est maximum.

Il est remarquable de voir un être auquel nous aurions tendance à refuser une organisation histologique complexe et délicate (les bactériologistes ne nous en parlent pas ou presque pas) présenter de telles finesses de fonctionnement, faisant pour ainsi dire un choix entre deux aliments, consommant d'abord l'un sans toucher à l'autre et n'ayant recours à ce dernier que si le premier vient à totalement manquer.

Nous devons insister, en présence de tels résultats, sur cette notion fondamentale : *les microbes, malgré leur petitesse et leur apparente simplicité morphologique, sont doués de propriétés physiologiques remarquablement délicates et nuancées*, et, comme les êtres supérieurs, possèdent un fonctionnement très complexe. *La biologie des microbes n'est pas une biologie simplifiée.*

La *nutrition des microbes,* comme celle des animaux, est un *acte complexe* : les aliments doivent d'abord être transformés en matières absorbables et assimilables, comme chez les animaux. Parfois cette transformation se fait dans le protoplasma microbien et par des agents que nous ne connaissons pas véritablement, ne les ayant pas sûrement isolés ; parfois elle se passe en dehors du microbe, dans le milieu, et sous l'influence d'agents que le microbe déverse dans le milieu, et qui sont des *diastases* équivalentes et fort semblables aux diastases digestives des animaux. Sans doute, un microbe quelconque ne possède pas l'entière série des diastases digestives de l'homme, et tous les microbes ne produisent pas les mêmes diastases ; mais aussi, tous ne se nourrissent pas indéfiniment d'aliments très variés ; au contraire, chacun utilise préférablement tel ou tel aliment et fabrique et excrète justement les diastases correspondantes.

On pourrait parler d'une *absorption alimentaire,* d'une *assimilation,* d'une *désassimilation* et d'une *excrétion des déchets* du travail chimique intramicrobien ; mais on ne serait pas constamment soutenu dans un tel exposé par les faits, car l'étude expérimentale de la physiologie alimentaire et nutritive des microbes n'est faite que pour quelques rares questions limitées. N'insistons donc pas.

Les microbes ne sont pas immuables : ils présentent sous l'influence des agents extérieurs des modifications plus ou moins durables, tant au point de vue morphologique qu'au point de vue physiologique. En cela, ils ne diffèrent pas des êtres supérieurs, pour lesquels on a signalé tant et de si remarquables faits de *transformation organique.*

En voici un *premier exemple.* Si on ensemence sur un liquide de Raulin ne contenant pas de sucre des spores d'Aspergillus niger, et si avec les spores de cette première culture on ensemence encore un liquide de Raulin sans sucre, et ainsi de suite pendant une assez longue série de générations, on constate que les spores des dernières cultures cessent d'être noires pour devenir verdâtres. Si on ensemence ces spores verdâtres sur un liquide de Raulin normal, elles fournissent une variété d'Aspergillus à spores verdâtres, au moins pendant

quelques générations, puis, peu à peu, l'Aspergillus reprend tous ses caractères normaux. C'est là, dans l'embranchement des microbes, un exemple de ces modifications morphologiques que présentent les animaux et végétaux soumis à certaines influences du milieu.

En voici un *second exemple*. La bactéridie charbonneuse forme des spores dans les conditions ordinaires de culture. Portons un bouillon dans lequel on vient d'ensemencer la bactéridie à une température de 42 à 43° ; le développement se fait, assez péniblement du r este, mai la bactéridie ne fabrique pas de spores, et, si on ramène le bouillon à 20° (température à laquelle la bactéridie non chauffée forme abondamment des spores), elle n'en fabrique pas davantage Si on ensemence cette bactéridie asporogène dans un bouillon neuf qu'on maintient à 20°, température optima, elle s'y développe, mais ne forme pas de spores, et elle n'en forme plus jamais quelque nombreux qu'aient été les réensemencements. Le chauffage à 42-43° a donc créé une variété stable de bactéridie.

En étudiant ci-dessous la virulence des microbes, nous retrouverons de nombreuses et importantes transformations de leurs qualités biologiques, à la suite d'un traitement convenable.

De telles transformations n'ont pas de conséquences favorables pour le microbe : que les spores de l'Aspergillus soient vertes ou noires, peu importe pour le plus grand profit de la moisissure ; — et si la bactéridie perd sa propriété d'engendrer des spores, ce n'est pas un progrès biologique, car elle est ainsi privée d'un moyen souvent fort efficace pour résister aux conditions défavorables dans lesquelles elle peut temporairement se trouver. Mais on connaît aussi des modifications microbiennes qui sont de véritables adaptations aux conditions qui leur sont imposées : en voici des exemples.

La bactéridie charbonneuse peut se développer à 10° et à 42°,5 ; mais elle le fait très lentement. Si on la cultive pendant de nombreuses générations soit à l'une soit à l'autre de ces températures, on la voit s'y développer de mieux en mieux et finalement s'y multiplier fort rapidement. La bactéridie s'est adaptée progressivement aux conditions dans lesquelles elle a vécu.

La même bactéridie peut s'accoutumer, en quelque mesure tout au moins, aux antiseptiques : on a reconnu, par exemple, que 0,05 °/₀₀ de sublimé ne permet pas à la bactéridie normale de se développer ; mais qu'il faut en employer 0,07 °/₀₀ pour arrêter le développement de bactéridies qui ont été cultivées pendant plusieurs générations sur des milieux contenant une dose de sublimé compatible avec la vie du microbe.

CHAPITRE III

LES FERMENTATIONS

SOMMAIRE. — Les fermentations autrefois. — La fermentation vineuse ou alcoolique; des transformations chimiques qui l'accompagnent; formule chimique approximative de la fermentation. — Cause de la fermentation alcoolique : une conception à priori. — La levure, son état d'organisation; sa présence dans les liquides en fermentation alcoolique. — La levure est-elle la cause ou la conséquence de la fermentation? Signification de la levure; culture de la levure dans le liquide de Pasteur; cultures en série et conséquences de cet essai. — Complexité de la vie de la levure. — Quelques points de la biologie de la levure : action de la température, développement de la levure et sa nutrition hydrocarbonée; action des agents anesthésiques. — Vie de la levure en surface et en profondeur. — La levure ferment; la propriété ferment. — La vie aérobie et la vie anaérobie de la levure. — Cause et conditions. — La fermentation lactique du lait; sa formule chimique élémentaire. — Le ferment lactique démontré par les ensemencements en eau de levure sucrée; son rôle dans la fermentation lactique : le ferment lactique intervient en tant qu'être vivant et agissant; sa nutrition, son caractère ferment. — Parallèle de la fermentation alcoolique et de la fermentation lactique. — La fermentation acétique : le vinaigre et le mycoderme; la réaction chimique essentielle de l'acétification. — Le ferment acétique et sa signification. — Son caractère éminemment aérobie; ses capacités d'adaptation. — Caractères communs aux ferments alcoolique, lactique et acétique. — La fermentation butyrique; sa formule chimique. — Le vibrion butyrique. — Son caractère anaérobie. — Cause et conditions d'une fermentation. — Associations microbiennes. — Un mot sur la fermentation ammoniacale de l'urée. — Les fermentations sont caractérisées par un acte chimique unique et non pas une succession d'actes chimiques : fermentations lactique et butyrique du lait : dissociation expérimentale. — De la spécificité des fermentations : quelques précisions; les fermentations et leurs variétés. — Pasteur.

On désignait jadis sous le nom de *fermentations* divers phénomènes dans lesquels des matières organiques subissaient des transformations chimiques, sans qu'il fût

possible de dire quel était le lien qui les unissait. Le *jus de raisin* abandonné à lui-même bouillonne en dégageant des bulles gazeuses et en se chargeant d'alcool : c'était une fermentation. La *pâte de farine* additionnée de *levain* gonfle : des cavités s'y forment ; le pain a remplacé la pâte : c'était une fermentation. Le *lait* conservé pendant quelque temps devient acide et aigrit ; sa caséine se précipite, entraînant les globules gras : c'était une fermentation. Le *vin* étalé en couche mince à l'air s'acidifie et devient vinaigre : c'était une fermentation. Les *matières organiques* subissent la putréfaction, la décomposition cadavérique : c'était une fermentation.

Dans toutes ces fermentations, il est généralement facile de reconnaître par simple observation qu'il y a eu *transformation de la matière organique*. Le vin n'a pas le goût du jus de raisin, ni le vinaigre celui du vin ; les matières putréfiées ont une odeur nauséabonde que n'avaient pas les substances dont elles dérivent. La pâte fermentée est boursouflée, levée ; le jus de raisin en fermentation bouillonne, etc.

Mais qu'y a-t-il de commun entre la *fermentation panaire* et l'*acétification du vin*, entre l'*acidification du lait* et la *putréfaction de la viande* ? On n'était pas en mesure de le dire jadis, et on masquait cette ignorance derrière des mots très mystérieux, et qui ne représentaient ni faits précis, ni notions scientifiques.

Choisissons comme premier sujet d'étude la *fermentation vineuse ou alcoolique*. Les raisins ont été écrasés et pressés ; le jus a été abandonné dans des tonneaux. Au bout de quelque temps, de petites bulles montent des profondeurs du liquide et forment à sa surface une mousse légère ; puis le phénomène s'accentue : l'écume devient plus abondante, le liquide bouillonne comme s'il était en ébullition ; un gaz se dégage en abondance ; finalement, après plusieurs jours, le travail chimique qui s'accomplit dans la liqueur et qui s'est traduit par l'effervescence, s'atténue et s'arrête. La fermentation est terminée : le vin a remplacé le jus de raisin.

Nous venons d'employer l'expression *travail chimique*, et c'est qu'en effet une *transformation chimique* s'est produite. Le jus de raisin renfermait entre autres substances

du *sucre* en assez forte proportion ; le vin n'en renferme plus (au moins en général) ; mais on en peut extraire par la chaleur une substance volatile, l'*alcool,* qui n'existait pas dans le jus de raisin ; d'autre part, pendant la fermentation, il s'est dégagé du *gaz carbonique.* On peut conclure de ces premières observations que, *dans la fermentation alcoolique, du sucre disparaît,* tandis que *de l'acide carbonique et de l'alcool apparaissent* et peut-être, dépassant d'ailleurs en cela les faits observés, se hasardera-t-on à énoncer cette proposition : *dans la fermentation alcoolique, le sucre est transformé en alcool et acide carbonique.*

Cette dernière proposition a nécessairement besoin d'un complément d'analyse pour cesser d'être une *simple hypothèse* et devenir une *vérité scientifique* : il se pourrait en effet que le sucre disparût sans produire ni alcool ni acide carbonique, ces dernières substances provenant de quelque autre élément du jus de raisin, qui ne serait pas le sucre et qui se transformerait en alcool et acide carbonique durant la fermentation.

Dosons le sucre contenu dans un volume déterminé de jus ; mesurons l'acide carbonique qui se dégage, et calculons-en le poids ; distillons la liqueur fermentée pour en retirer l'alcool ; déterminons sa quantité. Le poids du sucre disparu est assez exactement égal à la somme des poids de l'acide carbonique et de l'alcool produits. Et c'est là un premier fait justifiant la proposition de tout à l'heure. On peut d'autre part calculer les quantités de C, H, O, qui sont ici en jeu. On reconnaît que le poids du carbone contenu dans le sucre disparu est très sensiblement égal à la somme des poids du carbone contenu dans l'acide carbonique et dans l'alcool produits ; et on peut faire la même constatation pour l'oxygène et pour l'hydrogène.

Nous sommes maintenant autorisés à écrire une égalité chimique, puisque nous connaissons la nature des corps intervenant dans la réaction et leurs quantités. Si le sucre qui fermente est de la glycose, nous écrirons :

Sucre disparu = alcool produit + ac. carbonique dégagé ou encore en employant les symboles chimiques :

$$\underset{\text{Glycose}}{C^6H^{12}O^6} = \underset{\text{Alcool}}{2C^2H^6O} + \underset{\text{Ac. carbonique}}{2CO^2}$$

Une remarque s'impose toutefois, et qu'il ne faut pas différer : le poids du sucre disparu, avons-nous dit, est *assez exactement égal* à la somme des poids.....; le poids du carbone contenu dans le sucre disparu, avons-nous dit encore, est très sensiblement égal à la somme des poids..... Or la formule chimique de la fermentation n'est valable que si le poids du sucre disparu est *exactement égal* à....., que si le poids du carbone contenu dans le sucre disparu est rigoureusement égal à.....

La *formule de fermentation* n'a donc qu'une valeur approximative et non pas absolue ; elle est en conséquence *provisoire* et non définitive ; elle devra être corrigée à mesure que les études progresseront et que se révèleront les causes de ces à peu près.

Le sucre est une substance stable ne se détruisant pas spontanément. C'est dire que fixer la nature et la grandeur des transformations chimiques qui s'accomplissent en une fermentation vineuse ne suffit pas à résoudre l'entier problème de cette fermentation. Il faut déterminer *la cause de cette fermentation.*

Ici, comme en maintes questions scientifiques, la conception théorique a précédé l'étude complète du phénomène ; et la théorie a été proclamée avant d'avoir reçu par un contrôle serré et une vérification expérimentale satisfaisante sa justification. Cette façon de procéder peut conduire à l'erreur et conduit bien souvent à l'erreur ; nous en avons ici un remarquable exemple.

La fermentation alcoolique et en général les fermentations, a-t-on dit, se font en des liquides ou milieux qui renferment des matières organiques ; or ces matières, quand elles ne font plus partie d'un être vivant subissent des transformations (que nous appelons putréfaction), qui sont des *décompositions,* des *désagrégations.* Ne peut-on pas admettre que ce *mouvement de décomposition,* qu'elles présentent spontanément, se communique à toutes les matières contenues dans les liqueurs ou milieux et provoque leur décomposition. Ainsi les matières organiques du jus de raisin, en se décomposant spontanément, durant les jours qui suivent son obtention, entraîneraient la décomposition du sucre dans la liqueur, comme cette même décomposition de matières organiques entraînerait la décomposition lactique du sucre de lait, etc.

Est-il besoin d'insister pour montrer l'*imprécision de cette conception* ; décomposition spontanée des substances organiques, mouvement de décomposition transmis aux éléments du milieu, ne sont-ce pas là des *mots vides de sens* pour qui a reçu une éducation scientifique expérimentale ? Et pourtant des hommes qui s'étaient illustrés par des découvertes scientifiques majeures les ont acceptées d'enthousiasme et proclamées avec véhémence. L'esprit humain est souvent bien paradoxal !

Le jus de raisin contient des matières organiques, à côté du sucre, personne ne le conteste : on y reconnaît des composés azotés ; on y décèle de petites quantités de protéines. Mais ces substances organiques se décomposent-elles comme l'ont supposé certains auteurs, c'est ce qu'on n'a pas pris soin de démontrer.

En examinant au microscope un gouttelette de jus sucré en fermentation, ou un peu de cette écume qui se réunit à sa surface, ou une parcelle du dépôt grisâtre qui se tasse, en fin de fermentation, au fond du liquide, on reconnaît d'*innombrables globules ovoïdes ou sphériques, d'aspect organisé très caractérisé, isolés ou formant des amas assez irréguliers,* quelques-uns tout au moins parmi ces globules présentant en un point de leur surface un petit bourgeon : ce sont les *globules de levure.*

Qu'est-ce que la *levure ?* Est-ce une matière organique précipitée, comme est précipitée la caséine dans le lait aigri ? Assurément non : les précipités sont homogènes, *la levure est organisée* ; elle vit ou elle a vécu : c'est un *être biologique,* non un élément chimique.

Or *la levure peut être mise en évidence dans toutes les fermentations alcooliques,* non seulement dans la fermentation vineuse du jus de raisin, mais encore dans toutes les fermentations qui ont avec la fermentation vineuse ce caractère commun de transformer le sucre et de produire de l'alcool et de l'acide carbonique, p. ex. dans la *fermentation du moût des brasseries.* La levure est au moins *le témoin constant d'une fermentation alcoolique.* Le problème de la fermentation alcoolique n'a été mis sur le chemin d'une solution que le jour où fut fixée la *signification de cette levure* qu'on rencontre sans exception

dans les liquides fermentant ou ayant fermenté alcooliquement.

La levure est-elle la cause ou la conséquence de la fermentation ? Eternelle question, qui s'est imposée plus tard à l'attention des chercheurs dans le domaine de la pathologie microbienne : le microbe, qu'on trouve constamment en telle région de l'organisme quand le sujet examiné présente les symptômes cliniques de telle maladie, est-il la cause ou la conséquence de l'affection ? La cause ou la conséquence, qu'est-ce à dire ? *La cause,* cela veut dire que le jus sucré ne subit la fermentation alcoolique, ou que l'organisme vivant ne présente les symptômes cliniques de la maladie que si la levure a été introduite dans le jus sucré ou le microbe dans l'organisme. *La conséquence,* cela veut dire que le jus sucré subissant la fermentation alcoolique sous une influence quelconque, indéterminée, la levure trouverait dans la composition nouvelle de ce jus des conditions favorables à son développement, que ne lui fournissait pas le jus primitif, ou cela veut dire que l'organisme malade du fait de l'intervention de causes indéterminées, le microbe trouverait dans la composition nouvelle des humeurs et tissus de cet organisme des conditions favorables à son développement, conditions que ne lui présente pas l'organisme normal.

Supposons que, disposant d'un jus de raisin, nous le stérilisions à l'autoclave en l'un de ces ballons qui nous ont servi dans notre étude des générations spontanées, puis qu'après refroidissement, nous y introduisions quelque parcelle de levure : nous verrons s'établir une fermentation alcoolique normale. *Voilà qui relie plus intimement encore que les précédentes observations la fermentation alcoolique et la levure.*

Dira-t-on que la levure apporte avec elle un peu de substance organique, qu'elle aurait empruntée au milieu dans lequel elle avait été prélevée, et que cette matière organique se décomposant spontanément provoque, *par une sorte d'entraînement,* le dédoublement du sucre en alcool et acide carbonique, grâce à quoi la levure aurait prospéré et se serait multipliée ? Nous répondrons que cette hypothèse apparaît comme assez fragile, en raison de ce qu'il suffit d'une trace

de levure pour provoquer, dans les conditions où nous nous sommes placés la fermentation. Peut-on raisonnablement imaginer que la trace plus minime encore de matière organique qu'elle apporte avec elle puisse provoquer la décomposition de tout le sucre présent, quand il y a une si frappante discordance entre la quantité de cette matière organique et la quantité du sucre ? N'oublions pas pourtant que les diastases peuvent justement déterminer des transformations chimiques infiniment grandes étant elles-mêmes en quantités infiniment petites, et ne considérons pas par conséquent la question comme liquidée. Du reste à quoi bon ergoter ? *Revenons à l'expérience.*

On a préparé une liqueur ne renfermant pas de matières organiques proprement dites, constituée exclusivement de matériaux chimiques cristallisables et de sucres, capable de fermenter quand on l'ensemence à l'aide de levure : c'est *le liquide de Pasteur* :

Eau distillée. .	300 grammes.	Cendres de levure. . .	$0^{gr},15$
Sucre candi. .	20 grammes.	Bitartrate de pot. . .	$0^{gr},10$
Sulfate d'amm..	$0^{gr},15$.	Bitartrate d'ammon,. .	$0^{gr},05$

Si on introduit dans ce liquide une trace de levure, on voit s'établir une fermentation assurément moins vive que celle qui spontanément s'établit en un jus de raisins, mais qui n'en diffère pas par les caractères généraux qu'elle présente et par les transformations chimiques qu'elle produit. Et si, en fin de fermentation, on sépare la levure pour la peser, on constate que *la quantité actuellement présente est nettement supérieure à la quantité introduite lors de l'ensemencement.*

Assurément on peut dire qu'au moment de l'ensemencement, on a, avec la levure, introduit de la matière organique spontanément décomposable, et prétendre que c'est à elle qu'il faut rapporter la fermentation engendrée. Mais si on prélève dans cette première fermentation un peu de levure, pour la transporter en un nouveau flacon contenant du liquide de Pasteur, et si on continue à procéder ainsi 5, 10, 20 ou 50 fois, la fermentation se produit toujours avec les mêmes caractères et avec la même intensité qu'à l'origine.

En serait-il ainsi si la substance active, capable de provoquer la fermentation était la matière organique accom-

pagnant la levure? Car cette matière organique non vivante ne saurait augmenter de quantité durant la fermentation qu'elle produirait (seule la levure le peut faire), et dès lors, de transfert en transfert, sa quantité devient évidemment si infiniment petite qu'on peut légitimement admettre qu'à la 10e ou à la 50e expérience, il n'y en a plus du tout. Et pourtant la fermentation se produit. N'en résulte-t-il pas jusqu'à l'évidence que c'est bien la levure qui est la cause de la fermentation ?

Si, défendant le terrain pied à pied, on prétendait que c'est justement la levure qui fournit elle-même cette substance organique spontanément décomposable ; si on prétendait que, vivante et se développant, la levure doit mourir et se désagréger, abandonnant au milieu la substance organique spontanément décomposable, cause de la fermentation, nous répondrions, en endossant momentanément la mentalité que révèle une telle objection, nous ajouterions que présentement la question ne se pose pas de savoir si c'est la levure vivante ou la levure morte qui provoque la fermentation (la question se posera plus tard), mais tout simplement de savoir si c'est la levure, la vivante ou celle qui a vécu, peu importe, si c'est la levure ou quelque matière organique totalement étrangère à la levure et introduite avec elle, qui est la cause de la fermentation.

En résumé *la fermentation alcoolique est intimement liée à la présence de levure dans les jus sucrés.*

Qui dit *vie*, dit *chose complexe*, et justement il semble — au moins quand on examine superficiellement les faits — que la fermentation est un phénomène chimiquement très simple : dédoublement du sucre en alcool et acide carbonique. N'y a-t-il pas là quelque frappante opposition ?

Rappelons-nous la remarque que nous présentions lors de l'établissement de la formule chimique provisoire de la fermentation, à savoir que cette formule n'est qu'approximativement vraie, le poids du sucre détruit n'étant qu'à peu près égal à la somme des poids de l'acide carbonique et de l'alcool formés.

Reprenons plus minutieusement l'analyse du jus sucré après fermentation. Outre l'*alcool* qu'il renferme, nous y trouvons de la *glycérine* et de l'*acide succinique*, qui n'existaient pas plus que l'alcool dans le jus sucré primitif ; nous les y trouvons constamment, comme si ces substances étaient parties essentielles dans la dislocation fermentative du sucre, ce qui conduit à penser que la réaction chimique

qui s'accomplit dans l'acte de la fermentation dite alcoolique n'est pas du tout aussi simple qu'on l'avait imaginé tout d'abord, et qu'*établir la formule chimique de cette décomposition du sucre serait un travail formidable.*

Si l'on ajoute que, dans quelques cas sinon toujours, on voit apparaître dans le liquide fermenté des substances telles que l'*alcool amylique* et autres, plus ou moins complexes, on arrive à cette conclusion que *les actes chimiques de la fermentation alcoolique sont éminemment complexes,* et que cette complexité même nous éloigne de la chimie pour nous ramener à la biologie. C'est une vérification à postériori de cette conclusion à laquelle nous étions arrivés que, *dans la fermentation, la levure intervient en qualité d'être vivant,* puisqu'elle y introduit la *complexité* et même parfois la *variabilité des actes de vie.*

La levure, élément vivant, présente à étudier des *manifestations vitales*: il lui faut des conditions physiques pour se développer et prospérer ; il lui faut un milieu chimique favorable ; elle peut subir l'action toxique de diverses substances ; elle est sans doute capable de se modifier et de s'adapter aux conditions dans lesquelles elle est placée. Elle se nourrit et assimile ; elle se développe et se multiplie, etc.

Comme tous les micro-organismes, la levure se reproduit et se multiplie plus ou moins bien selon la température du milieu.

On le constate en ensemençant de la levure dans un liquide apte à assurer sa vie et sa multiplication. Nul à 0°, faible à température basse (5 à 10°), le développement se précipite quand la température augmente, pour présenter un maximum entre 25 et 35°, puis il décroît rapidement au delà de cette température pour cesser totalement à 40°.

La fermentation alcoolique suivant les mêmes lois que le développement de la levure, on peut insister sur la conclusion déjà énoncée : *la fermentation est intimement liée à la présence de la levure, et,* ajouterons-nous, *à sa multiplication.*

La quantité de levure augmente durant la fermentation; elle a donc emprunté au milieu des éléments dont elle a formé ses tissus. Parmi ces éléments, il en est d'*azotés,*

nécessairement parce que le protoplasma de levure est azoté, comme tout protoplasma ; il en est aussi de *ternaires*, nécessairement car la levure peut se développer sur des milieux assez pauvres en substances azotées pour que le poids total de ces substances azotées soit inférieur au poids de levure engendrée. Comme les graisses n'existent pas en quantité appréciable dans les jus fermentescibles, ce sont les sucres qui fournissent, pour la majeure partie, la matière ternaire indispensable à l'accroissement de la levure. Dans le jus de raisin, il y a de la *glycose* ; le sucre candi qu'on utilise dans la préparation des milieux fermentescibles de laboratoire est de la *saccharose* ; le moût des brasseries renferme de la *maltose*. La levure utilise ces sucres également bien, et, semble-t-il, avec la plus parfaite indifférence. Mais si on emploie comme liqueur fermentescible un liquide de Pasteur, dans lequel le sucre candi a été remplacé par du *sucre de lait,* ou si on emploie du lait ou du petit lait (liquide séparé du caillot engendré par la présure dans le lait) et qui sont des liquides lactosés, la fermentation ne se produit pas. Si on ajoute au moût de brasserie ou au jus de raisin une quantité déterminée de lactose, on retrouve celle-ci en totalité et inaltérée à la fin de la fermentation. La levure qui utilise la glycose, la maltose, la saccharose, ne peut utiliser la lactose. (On connaît des levures utilisant la lactose à l'égal des autres sucres, mais ce ne sont ni la levure de bière, ni la levure de vin.)

Une *remarque*. Si on imaginait que la cause de la fermentation réside dans la destruction spontanée d'une matière organique non vivante, ne serait-il pas étonnant que la lactose, dont la structure chimique n'est pas très différente de celle des autres sucres, résistât à l'ébranlement destructeur ? Ne serait-il pas étonnant que la matière organique non vivante qui accompagne les levures spéciales, capables de faire fermenter la lactose, provoquent la décomposition de celle-ci, alors que les matières organiques qui accompagnent les levures ordinaires ne le pourraient faire ? On n'éprouve plus d'étonnement, par contre, à noter qu'*une levure, être vivant*, donc d'*apparence capricieuse, choisit ses aliments,* utilise celui-ci, néglige celui-là. L'Aspergillus niger, nous l'avons noté, consomme le sucre d'abord, et seulement en l'absence de sucre l'acide tartrique du liquide de

Raulin. Un micro-organisme du groupe des moisissures (probablement un *Penicillium*) utilise le tartrate droit d'ammoniaque et respecte le tartrate gauche qui l'accompagne à poids égal dans le paratartrate d'ammoniaque, malgré que ces deux tartrates, le droit et le gauche, aient la même composition centésimale, la même structure chimique et ne diffèrent l'un de l'autre que par leur symétrie inverse. N'est-ce pas là une nouvelle confirmation de notre conclusion : *la fermentation est intimement liée à la présence de la levure, et,* ajouterons-nous, *à la vie de la levure.*

Pour la levure, comme pour tous les microbes et pour tous les êtres vivants, il existe des *substances toxiques,* dont les unes tuent, dont les autres provoquent l'état de *vie latente* ou de *mort apparente.*

Négligeons les premières, et parmi les secondes, ne retenons que les *anesthésiques* (*chloroforme* et *éther*). Dans un jus sucré, versons quelques gouttes de chloroforme ou d'éther ; agitons pour en assurer la dissolution jusqu'à saturation ; ajoutons un peu de levure et abandonnons à la température moyenne quelques heures ou quelques jours (en évitant que l'anesthésique s'évapore) ; il ne se produit pas de dégagement gazeux ; le sucre n'a ni disparu ni diminué ; il ne s'est pas formé d'alcool : il n'y a pas eu fermentation.

Faisons maintenant barboiter dans la liqueur un courant d'air pour entraîner la totalité de l'éther ou du chloroforme, nous constatons que la fermentation s'installe et que de l'alcool apparaît. Les anesthésiques avaient donc temporairement suspendu la fermentation. Or les anesthésiques, véritables réactifs de la vie, suspendent tous les phénomènes liés à la présence et à l'activité d'un être vivant. Si la fermentation était un phénomène de dislocation chimique du sucre provoqué par la dislocation de molécules organiques de la liqueur, on ne comprendrait pas comment les anesthésiques pourraient, — non pas supprimer cette action définitivement comme il arriverait s'ils modifiaient la substance organique au point de la rendre imputrescible, — mais bien suspendre cette action jusqu'au moment où, ayant disparu, ils ne s'opposeraient plus à l'action destructrice de cette matière organique. Ces expériences d'arrêt de la fermentation par les anesthésiques viennent confirmer encore une fois notre conclusion : *la fermentation est intimement liée à la présence de levure vivante, et,* ajouterons-nous, *agissante.*

La levure se comporte différemment quand elle se développe *dans la profondeur d'un jus sucré,* comme elle le

fait soit dans le jus de raisin, soit dans le moût des brasseries, ou quand elle se développe à *sa surface,* ainsi qu'on peut l'obtenir expérimentalement. Dans le premier cas, le sucre se décompose essentiellement en alcool, qui demeure dans la liqueur et acide carbonique, qui se dégage, et cette fermentation progresse en même temps que se multiplie la levure. Dans le second cas, le sucre diminue régulièrement, à mesure que la levure s'étale en voile à la surface du jus sucré ; mais si, dans ces conditions, de l'acide carbonique se dégage encore dans l'atmosphère, le liquide ne renferme pas d'alcool. Il n'y a donc pas eu ici *fermentation alcoolique,* mais *combustion du sucre* par l'oxygène atmosphérique grâce à l'entremise de la levure, et production d'eau et d'acide carbonique ; et cette combustion progresse en même temps que se multiplie la levure.

Dans le premier cas, *la quantité de la levure produite* durant la fermentation *est très petite par rapport à la quantité du sucre décomposé* : son poids ne représentera, par exemple, que le cinquantième ou moins encore du poids du sucre disparu : il y a disproportion entre le poids de la levure produite et le poids du sucre détruit. Dans le second cas, *la proportion de la levure produite* durant la combustion du sucre *est notablement plus grande* que dans le premier cas, *pour une même quantité de sucre disparu,* car son poids représente souvent le cinquième ou même le quart du sucre détruit.

On dit que la *levure immergée* dans le jus sucré devient *ferment* ou acquiert *la propriété ferment,* et par là on entend souligner cette *disproportion entre la quantité de levure engendrée et la quantité de sucre transformé*. Étalée à la surface du liquide sucré et y provoquant la combustion du sucre, la levure cesse d'être un ferment ou perd la propriété ferment parce que la disproportion de tout à l'heure n'existe pas.

Nous avons noté déjà que malgré leur petitesse, les microbes sont des agents puissants, parce qu'ils compensent leurs minuscules dimensions par leur multiplication infiniment rapide. Nous noterons ici que *la levure ferment est un agent puissant* et grâce à sa capacité de multiplication rapide et grâce à sa propriété de transformer des quantités de matières, non pas certes infiniment grandes par rapport

à elle-même, mais tout au moins grandes si on les compare aux quantités de levure agissante.

L'expérience de la levure se développant en surface sans former d'alcool ne réussit bien que si le jus sucré est contenu en de très larges cuvettes sur une épaisseur très minime et si on assure un large accès à l'air et son perpétuel renouvellement. Une question s'impose : la différence constatée entre les transformations chimiques du sucre dans les deux cas n'est-elle pas en rapport intime avec l'*aération du milieu,* la levure assurant la combustion totale du sucre quand l'oxygène ne fait pas défaut, ou plus exactement quand l'oxygène est présent en surabondance au contact de la levure ; la levure faisant subir au sucre un dédoublement sans combustion quand l'oxygène fait plus ou moins défaut ou tout au moins n'est fourni que parcimonieusement à la levure.

Quand la levure se développe en surface au contact d'une atmosphère constamment renouvelée, l'oxygène est là à profusion ; quand la levure se développe en profondeur, elle a vite consommé tout ou partie de l'oxygène dissous dans la liqueur ; et comme les gaz atmosphériques ne diffusent que lentement dans les liqueurs en couches épaisses et que l'acide carbonique en se dégageant entraîne vers la surface l'air qui pouvait exister dans la liqueur ou tout au moins une partie de cet air, la liqueur ne tarde pas à être privée d'oxygène plus ou moins complètement.

L'expérience justifie cette hypothèse. En prenant des dispositions pour que le jus sucré soit plus ou moins parfaitement aéré, on constate que *le rendement en alcool* pour une même quantité de sucre disparu est d'autant plus grand que l'aération est moindre et inversement ; on constate, d'autre part, que la quantité de levure produite pour un même poids de sucre détruit est d'autant moindre que l'aération est moindre et inversement.

Ces constatations conduisent aux propositions suivantes. *La fermentation alcoolique du sucre correspond à la vie anaérobie* (c'est-à-dire *sans air*) *de la levure* ; la combustion du sucre, ci-dessus notée, correspond à *sa vie aérobie* (c'est-à-dire *au contact de l'air*). Bien entendu, on ne

prendra pas ces termes dans un sens trop strict, et on n'oubliera pas que les deux manifestations aérobie et anaérobie de la levure peuvent se combiner en proportions variables selon la quantité d'oxygène présente.

A un autre point de vue encore, il importe de n'être pas trop strict. Le pouvoir ferment de la levure augmente à mesure que diminue la proportion d'air dont elle dispose ; mais encore ne faut-il pas dépasser dans la réduction de l'air une certaine limite, au-dessous de laquelle la levure cesse d'agir sur le sucre. Si, p. ex., on introduit de la levure en *un jus sucré, totalement débarrassé de l'air dissous* par une ébullition suffisante, et refroidi à l'abri de l'air, on constate qu'il ne se produit ni fermentation, ni destruction du sucre. La levure qui se multiplie si bien en vie aérobie, la levure qui se multiplie encore, quoique moins bien, en vie partiellement anaérobie, la levure cesse de se multiplier et d'agir chimiquement en milieu absolument privé d'air : elle passe alors à l'*état de vie latente. Il faut à la levure pour vivre, se multiplier et agir, un minimum d'air à sa disposition.*

Une *remarque.* L'étude que nous venons de faire des rapports de l'air et de la levure, de l'air et de la fermentation alcoolique confirme nos précédentes conclusions relativement au rôle de la levure vivante et agissante dans l'acte de la fermentation. Cette *variabilité* quantitative si grande dans les résultats d'une fermentation sous l'influence des quantités d'air présentes ne s'accorde guère avec l'hypothèse d'une transformation ne relevant que d'actes chimiques. Mais ces faits s'accordent fort bien avec *la sensibilité si délicate* à l'égard des modifications du milieu, *que nous reconnaissons si souvent aux êtres vivants et aux manifestations de la vie.*

Concluons : *la fermentation alcoolique est la conséquence de la présence dans un jus sucré de levure vivante et agissante* ; elle est la *manifestation chimique de la vie de la levure ferment* ou *de la vie anaérobie de la levure.*

Dernière *remarque.* La levure, pour faire fermenter le sucre, doit trouver dans le milieu des traces d'oxygène ; en cas d'absence totale de l'oxygène, il n'y a pas de fermentation alcoolique. Notons expressément que la fermentation ne se produit que si la levure cause de la fermentation est présente, et que si l'oxygène (en faible quantité) condition de la fermentation est aussi présent. En tout phénomène biologique, ne l'oublions jamais, il faut rechercher la *cause* et les *conditions* de production.

— Examinons quelques autres phénomènes de fermentation, afin de rechercher si, en chacun d'eux, intervient un *micro-organisme spécifique,* comme un micro-organisme spécifique intervient en la fermentation alcoolique ; et si les particularités de cette fermentation, que nous avons notées, se retrouvent ailleurs, auquel cas nous pourrions leur attribuer une valeur générale.

Le *lait,* en particulier le lait de vache, abandonné en vases largement ouverts à l'air, à la température ordinaire, subit une modification dès longtemps rangée parmi les fermentations. Il était de réaction neutre, ou plus exactement amphotère (c'est-à-dire bleuissant faiblement le papier rose de tournesol et rougissant faiblement le papier bleu) ; peu à peu il devient nettement acide : il contient de *l'acide lactique*, dérivant sûrement de la *lactose* du lait, celle-ci diminuant régulièrement à mesure que celui-là augmente régulièrement ; finalement, l'acidité de la liqueur est suffisante pour précipiter la caséine : on dit que le lait est aigri (à cause de la saveur aigrelette qu'il doit à l'acide lactique) ou coagulé (à cause de la précipitation de la caséine, improprement appelée coagulation), ou tourné.

Ici, comme dans notre étude de la fermentation alcoolique, nous poserons la question : *quelle est la cause de la fermentation lactique?*

Au *point de vue chimique,* la fermentation lactique correspond à la transformation de lactose en acide lactique. Provisoirement tout au moins on peut représenter cette transformation par l'égalité chimique approximative.

$$\underset{\text{Lactose}}{C^{12}H^{22}O^{11}} + \underset{\text{Eau}}{H^2O} = \underset{\text{Ac. lactique}}{4\,C^3H^6O^3}.$$

Or la fermentation alcoolique de la saccharose peut être représentée approximativement par la formule chimique suivante.

$$\underset{\text{Saccharose}}{C^{12}H^{22}O^{11}} + \underset{\text{Eau}}{H^2O} = \underset{\text{Alcool}}{4\,C^2H^6O} + \underset{\text{Ac. carbonique}}{4\,CO^2},$$

Le phénomène chimique essentiel de la fermentation lactique est donc une dislocation moléculaire de la lactose avec hydratation, comme le phénomène chimique essentiel de la fermentation

alcoolique de la saccharose est une dislocation moléculaire avec hydratation.

Les apparences immédiates des fermentations lactique et alcoolique diffèrent d'ailleurs : *dans la fermentation alcoolique, il y a bouillonnement et dégagement gazeux ; rien* au contraire *ne traduit directement la fermentation lactique, qui s'accomplit sans dégagement de gaz.*

Imaginera-t-on que cette dislocation de la lactose est la conséquence d'une décomposition spontanée de la matière organique du lait, comme on avait imaginé semblable explication pour la fermentation alcoolique ? Soutiendra-t-on que cette conception est d'autant plus vraisemblable ici qu'on ne trouve pas de levure à l'examen microscopique du lait aigri et tourné comme on en trouve toujours dans la fermentation alcoolique, le champ microscopique n'étant parsemé que de globules gras et de fins granules de caséine précipitée ? Une telle conception de la fermentation lactique reposerait sur une observation faite superficiellement et qu'il convient de reprendre dans des conditions plus favorables, grâce auxquelles on peut aisément manifester le *microbe de la fermentation lactique.*

Préparons de l'eau de levure (en faisant bouillir 50 gr. de levure avec 1 litre d'eau, et filtrant) ; ajoutons-y 50 à 100 gr. de sucre par litre (sucre candi ou lactose, peu importe), puis un peu de craie finement pulvérisée (on sait en effet depuis longtemps que l'acide lactique qui se forme dans cette fermentation la ralentit et l'arrête avant disparition totale du sucre, tandis que la fermentation est poussée jusqu'à consommation totale du sucre si l'acide lactique formé est neutralisé par le carbonate de chaux). Ensemençons en cette liqueur un peu de lait ayant subi une bonne fermentation lactique spontanée et mettons à l'étuve à 30-35°.

La craie s'est déposée au fond du ballon ; le liquide qui la surmonte est clair, limpide. Bientôt ce liquide se trouble en même temps que la craie se dissout (l'acide lactique formé transforme la craie en lactate de chaux soluble ; un dégagement de bulles d'acide carbonique se produit, non comme manifestation primaire et immédiate de la fermentation, mais comme conséquence de la réation de l'acide lactique sur la craie), puis quand la fermentation est terminée, un *dépôt grisâtre* se forme au fond du ballon.

Au microscope ce dépôt, qu'on a parfois appelé malencontreusement levure lactique, se montre constitué de

courts bacilles immobiles dont la longueur est comprise entre 1 et 3 μ, dont la largeur ne dépasse guère 1/2 μ. Les uns sont isolés, les autres sont réunis 2 à 2 ; d'autres forment de courtes chainettes de quelques éléments. Voilà le microbe auquel on peut sans doute attribuer la fermentation lactique.

On a peine à reconnaître ce microbe dans le lait en état de fermentation lactique, parce que rien, à l'examen microscopique direct ne permet de le distinguer de la caséine précipitée. Mais si on étudie les fermentations lactiques qui se peuvent produire dans des liqueurs sucrées additionnées de maltopeptone et de craie, p. ex. dans la suivante

Eau.	1000 c.c.	Maltopeptone. . . .	25 gr.
Sucre.	100 gr.	Craie pulvérisée. . .	50 —

il n'est pas rare de voir se produire, à la surface de la craie déposée, des taches grises, dont une parcelle transportée dans l'eau de levure sucrée et carbonatée de tout à l'heure y engendre une fermentation lactique typique, et la production d'un dépôt dont les éléments sont les mêmes que ceux que nous avons signalés ci-dessus.

Cet élément organisé, appelé *ferment lactique,* qui est intimement lié à la fermentation lactique, comme la levure est liée à la fermentation alcoolique, est d'ailleurs vivant, car rien n'est plus évident que son augmentation durant la fermentation lactique : le volume et le poids du dépôt réuni au fond du vase dépassent le volume et le poids de la minuscule quantité de semence ajoutée au liquide.

Si on répète l'essai de fermentation lactique sur une *eau de levure sucrée et carbonatée*, ensemencée de ferment lactique, et qu'on a saturée de *chloroforme* ou d'*éther,* on constate que la fermentation est totalement suspendue, au moins tant que le milieu reste saturé d'anesthésique ; elle se développe au contraire si, de cette liqueur, on chasse l'éther ou le chloroforme en la faisant traverser par un vigoureux courant d'air. Nous répétant, nous dirons : les *anesthésiques suspendent toutes les manifestations vitales* ; or *ils suspendent la fermentation lactique* ; n'est-ce pas la preuve que celle-ci est intimement liée à la vie du ferment lactique ?

La fermentation lactique, comme la fermentation alcoolique, n'est pas un acte chimique simple, transformation de lactose en acide lactique. Sans doute, l'acide lactique produit correspond à la majeure partie de la lactose disparue, mais non pas à la totalité; et, à côté de lui, on a signalé les acides succinique, acétique, etc. C'est là une preuve complémentaire de *la nature vitale de la fermentation lactique: la complexité des réactions chimiques en jeu en fait foi.*

Le ferment lactique se multiplie durant la fermentation; il consomme des éléments azotés et ternaires du milieu. Parmi les aliments ternaires, citons d'abord la lactose, si abondante dans le lait; mais il peut utiliser d'autres matières ternaires : ne l'avons-nous pas vu prospérer sur l'eau de levure saccharosée ? Et à la saccharose ou à la lactose, on pourrait substituer glycose, lévulose, galactose, maltose, dextrines, etc.

L'influence de l'air sur la fermentation lactique n'a pas été déterminée avec la précision apportée à l'étude correspondante relative à la fermentation alcoolique : les résultats indiqués ne sont pas concordants : cela tient sans doute à ce que plusieurs microbes sont ferments lactiques et que les expérimentateurs n'ont pas toujours utilisé le même microbe. Il semble toutefois que pour les ferments lactiques les plus répandus, les choses se passent comme pour la levure, c'est-à-dire que la fermentation se développe au mieux quand l'air fait défaut. Si cette conclusion se confirmait, la fermentation lactique serait, comme la fermentation alcoolique, la manifestation d'une vie anaérobie.

Notons enfin qu'il y a disproportion entre le poids de ferment lactique produit et le poids de sucre détruit en cours de fermentation, comme il y avait semblable disproportion en cours de fermentation alcoolique. *Le ferment lactique est* donc véritablement *ferment* au sens attribué ci-dessus à ce mot.

Est-il besoin d'insister longuement pour souligner *les analogies que nous avons reconnues entre les deux fermentations alcoolique et lactique?* Dans les deux cas une matière organique (sucre, par exemple) subit une décomposition avec ou sans hydratation (suivant la nature du sucre); dans les deux cas, cette transformation chimique

a comme condition la présence d'un élément organisé vivant, se multipliant et agissant ; dans les deux cas, la fermentation subit le contre-coup des modifications de l'activité vitale des éléments figurés, produites par les modifications physique et chimique du milieu ; dans les deux cas, l'agent figuré possède la propriété ferment.

Convient-il de généraliser et, dès maintenant, de tracer un tableau général théorique de toutes les fermentations, de leur nature chimique, de leur cause biologique, des influences que peuvent exercer sur elles les changements de composition du milieu et notamment les changements de composition gazeuse (air ou oxygène), etc? Ce serait fort imprudent : deux exemples ne suffisent pas en biologie pour promulguer des lois ; il faut multiplier les études particulaires avant de songer à présenter une vue d'ensemble. Suivons cette sage méthode et continuons nos examens.

Les *liqueurs alcooliques peu chargées d'alcool,* les bières, les vins faibles ou étendus d'eau, abandonnés à l'air, aigrissent souvent et *se transforment en vinaigre :* l'alcool a disparu, la liqueur contient de l'acide acétique : c'est *la fermentation acétique.*

L'industrie du vinaigre, qui utilisait cette fermentation sous des formes en apparence diverses, pourrait sans doute donner quelques renseignements utilisables dans l'étude scientifique de la fermentation. Demandons-les lui.

Dans la fabrication du *vinaigre d'Orléans,* on emploie des tonneaux couchés qu'on remplit partiellement de vin mélangé de vinaigre provenant d'une préparation antérieure. La production du vinaigre abandonnée au hasard marche plus ou moins bien : tel tonneau donnera une rapide et excellente fermentation, tel autre en donnera une moyenne ou médiocre, tel autre n'en donnera pas. Les industriels avaient observé que l'acétification s'accomplissait mieux quand le liquide était largement aéré et, pour lui assurer la plus grande aération possible, ils avaient ménagé de grandes ouvertures dans les fonds du tonneau, au-dessus et en voisinage immédiat de la surface du liquide. Ils avaient reconnu en outre que, dans les tonneaux où l'acétification se développe le mieux, il existe à la surface du liquide une pellicule grisâtre, plissée. Si quelque cause intervient qui fait plonger la pellicule dans le liquide, l'acétification s'arrête et ne reprend son évolution que si une nouvelle pellicule semblable à la première se développe en surface.

La *réaction chimique* correspondant à cette fermentation diffère des réactions chimiques correspondant aux fermentations alcoolique et lactique. Il ne s'agit plus de décomposition avec hydratation; il s'agit d'oxydation avec production d'eau.

$$\underset{\text{Alcool}}{C^2H^6O} + O^2 = \underset{\text{Ac. acétique}}{C^2H^4O^2} + H^2O$$

La propriété commune à toutes les fermentations, que nous recherchons, n'est donc pas l'identité de la réaction chimique qui leur correspond. Les fermentations sont des transformations chimiques certes, mais elles ne forment pas un bloc chimique : *c'est en dehors de la chimie qu'il faut chercher le lien qui les réunit en un faisceau.*

Nous avons combattu cette opinion que la fermentation alcoolique pouvait être la conséquence d'une décomposition spontanée de quelque substance organique contenue dans la liqueur, provoquant la décomposition du sucre. Semblable hypothèse (qui pouvait s'énoncer à propos de fermentation alcoolique, parce qu'en celle-ci le sucre est en vérité décomposé ou disloqué) ne saurait être soutenue quand il s'agit de fermentation acétique, puisque le fait chimique ne correspond plus à une dislocation ou décomposition, mais à une oxydation, c'est-à-dire à une combinaison.

Et cela nous amène à faire la remarque suivante. Quand se pose une question d'un caractère assez général, il n'est pas indifférent de prendre au hasard un cas quelconque pour la résoudre : ici, p. ex., il n'est pas indifférent de choisir la fermentation alcoolique ou la lactique ou l'acétique. La solution, qui ne s'imposait pas immédiatement pour les premières, s'impose dans le troisième cas. Il y a donc des *exemples de choix* et qu'on ne peut évidemment caractériser comme tels que si on a fait des recherches multiples et répétées. Il importe donc, en un problème de biologie générale, de multiplier les études particulières, et ensuite de s'appuyer sur les résultats obtenus pour *choisir le cas le plus favorable pour faire une démonstration frappante et catégorique.*

Prenons une parcelle du *voile* étalé à la surface du tonneau, du *mycoderme du vinaigre,* dit-on parfois; examinons-le au microscope, après en avoir dissocié les éléments dans un peu du liquide sur lequel il flottait. Il est formé d'une infinité de *petits bacilles courts et gros,* un peu

étranglés en leur partie moyenne, un peu renflés à leurs extrémités, mesurant 3 μ de longueur et 1 μ 1/2 de largeur, généralement associés en longues files onduleuses.

Ce microbe s'observe, pour qui sait le chercher, dans toutes les opérations d'acétification, quel que soit le procédé adopté, et là même où les conditions ne permettent pas la formation d'un voile (nous songeons ici au procédé allemand de fabrication du vinaigre, dans lequel on fait couler sur des copeaux de hêtre entassés en une longue colonne verticale, parcourue par un courant d'air ascendant, le liquide faiblement alcoolique). On peut d'autre part provoquer à coup sûr une fermentation acétique dans un liquide faiblement alcoolique, à l'aide d'un fragment de cette pellicule, *à condition qu'on la fasse flotter à la surface du liquide*; cette fermentation se développe d'ailleurs très rapidement dans ces conditions, si l'on assure une *active rénovation de l'air* à la surface du liquide.

La fermentation acétique et le microbe considéré, que nous appellerons *ferment acétique,* sont donc intimement liés l'une à l'autre.

On pourrait renouveler la démonstration déjà faite pour établir que la levure n'est pas la conséquence, mais la cause de la fermentation alcoolique. On y réussirait en préparant le liquide suivant :

20 c.c. alcool à 95 pour 100.	20 cgr. tartrate d'ammoniaque.
20 c.c. ac. acétiq. crist.	20 cgr. phosphate de soude.

eau : quantité suffisante pour 1 litre

et en déposant à sa surface une trace de mycoderme. Il n'y a là à peu près que des matériaux chimiques et nulle trace (sinon les minuscules particules apportées par le mycoderme) de matières organiques. La fermentation acétique se produit admirablement bien quand les conditions de flottement du mycoderme et d'aération nécessaires sont réalisées.

Il serait très simple d'ailleurs de faire des cultures en série sur ce liquide minéral ne contenant pas de matières organiques proprement dites, comme nous avons fait pour la levure, afin d'éliminer toute trace, même infiniment petite de matière organique apportée par le mycoderme lors du premier ensemencement. La fermentation acétique se produit toujours, même lors du 30e ensemencement, et avec la même facilité.

Le mycoderme se multiplie avec une déconcertante rapidité. Si on dispose d'une surface de 1 mètre carré, de liquide convenable, d'eau de levure alcoolisée à 5 pour 100 par exemple, et si on y dépose une trace minuscule de mycoderme, la surface se recouvre entièrement en 24 h. quand les conditions d'aération et de température sont favorables. Malgré tout, le poids du mycoderme est minime (environ 1 gr. de matière sèche) ; or en 24 h., ce voile peut acétifier 2 kg. d'alcool, soit 2000 fois son propre poids.

Le mycoderme du vinaigre possède donc la propriété ferment au plus haut degré ; il est ferment plus encore que la levure, car celle-ci transforme en 24 h. 60 à 80 fois son poids de sucre, celui-là en transforme 2000 fois. Nous sommes assurément autorisés à parler de *ferment acétique.*

La fermentation acétique se produit d'autant mieux que l'atmosphère est plus parfaitement renouvelée, c'est-à-dire que l'oxygène est présent au maximum de tension. Cette observation ne surprend pas celui qui connaît la formule de fermentation acétique : l'oxygène de l'air est transporté par le mycoderme sur l'alcool qui devient acide acétique : *l'oxygène prend part ici à la réaction chimique,* tandis qu'il n'y prenait pas part dans la fermentation alcoolique. Le ferment acétique est *obligatoirement aérobie.* La fermentation alcoolique est la *manifestation de la vie anaérobie de la levure* ; la fermentation acétique est la *manifestation de la vie aérobie du mycoderme.*

Si la proportion d'oxygène diminue sans pourtant tomber à une trop faible valeur, le mycoderme oxyde encore l'alcool, mais moins énergiquement ; il ne le fait passer qu'à l'état d'*aldéhyde* $CH^3 — CHO$

$$\underset{\text{Alcool}}{C^2H^6O} + O = \underset{\text{Aldéhyde}}{C^2H^4O} + H^2O$$

au lieu d'acide acétique $C^2H^4O^2$. Voilà un exemple de *modification de l'activité chimique d'un microbe selon les conditions ambiantes.*

En voici un autre. Si l'alcool manque dans la liqueur, par suite de sa transformation plus ou moins complète en acide acétique, le mycoderme continue à se développer, mais en utilisant, à défaut d'alcool, l'acide acétique qu'il formait tout à l'heure : il l'oxyde, le transformant en acide carbonique et eau, tandis qu'en présence d'alcool cette oxydation ne se produit pas. *Le microbe adapte son activité chimique aux conditions ambiantes.*

Répétons ici ce qui à déjà été noté : *malgré leur infinie petitesse et malgré leur apparente simplicité structurale, les microbes ont une biologie remarquablement délicate et compliquée.*

Avant de pousser plus loin notre étude, demandons-nous quels sont *les caractères communs à ces trois fermentations*, alcoolique, lactique et acétique. Ce n'est pas la nature du phénomène chimique de la fermentation, puisque nous avons là des dédoublements, ici une oxydation. Ce ne sont pas les conditions de vie aérobie ou anaérobie, puisque là nous reconnaissons dans la fermentation une manifestation de vie anaérobie, et ici une manifestation de vie éminemment aérobie. C'est d'abord que la fermenlation est liée à la *présence d'un micro-organisme vivant,* se multipliant et agissant. C'est ensuite que ce micro-organisme présente *le caractère ferment,* c'est-à-dire transforme une quantité de matière dont le poids est considérablement plus grand que le sien.

— Quand du lait est abandonné en vase ouvert, il subit plus ou moins rapidement la fermentation lactique. Parfois, les jours suivants, une fermentation nouvelle, succédant à la première, s'y développe, qui n'a plus les caractères de la fermentation lactique. La fermentation lactique se faisait sans production de gaz, la nouvelle fermentation donne lieu à un dégagement gazeux (mélange d'acide carbonique et d'hydrogène). La fermentation lactique se faisait sans engendrer de matières odorantes, la nouvelle fermentation conduit à la production d'une substance à odeur âcre (*acide butyrique*). *La fermentation butyrique a succédé à la fermentation lactique.*

Prenons cette eau de levure sucrée et carbonatée, dont il a été question ci-dessus, et dans laquelle s'est développée une fermentation lactique poussée jusqu'à disparition totale du sucre ; jetons sur un filtre pour en séparer l'excès de carbonate de chaux, puis stérilisons par la chaleur le liquide clair recueilli comme filtrat. Après refroidissement, ajoutons à ce liquide une goutte d'un lait ayant présenté une fermentation butyrique spontanée. Une fermentation s'y développe (au moins si le liquide n'a pas été agité à l'air après stérilisation, et s'il est conservé en un vase qu'il remplit), qui nous est révélée par un dégagement gazeux (acide carbonique et hydrogène) ; le liquide

ne présente pas l'odeur butyrique, mais l'analyse chimique révèle la présence de butyrate de chaux, au lieu de lactate de chaux qui s'y trouvait lors de l'ensemencement.

On obtiendrait encore une fermentation butyrique en ensemençant avec un peu de lait butyrique soit de l'eau de levure sucrée et carbonatée n'ayant pas fermenté lactiquement, soit un liquide formé de :

Eau.	1 litre.	Phosphate d'ammoniaque. . . .	0,5 à 1 gr.
Saccharose.	30 gr.	Carbonate de chaux	25 gr.

L'équation de la fermentation butyrique peut s'écrire :

$$\underset{\text{Saccharose}}{C^{12}H^{22}O^{11}} + H^2O = \underset{\text{Ac. butyrique}}{2\,C^4H^8O^2} + 4\,CO^2 + 4\,H^2.$$

Au microscope, on reconnaît dans le liquide fermenté des *bâtonnets cylindriques* à extrémités arrondies, de 5 μ environ de longueur sur 0 μ 6 de largeur, droits ou légèrement courbés, souvent disposés en files de quelques (3 ou 4) éléments, et *animés de mouvements oscillatoires* parfois très rapides, grâce auxquels ils se déplacent dans le milieu. Ce sont les *Vibrions butyriques*.

Dans un liquide présentant la fermentation butyrique, placé entre lame et lamelle pour l'observation microscopique, les vibrions qui se trouvent dans les parties voisines des bords de la lamelle ne tardent pas à être moins mobiles, puis deviennent tout à fait inertes, tandis que ceux qui sont au centre de la préparation conservent leurs mouvements rapides, au moins pendant très longtemps. Ce fait frappe d'autant plus l'observateur que celui-ci a noté l'inverse quand il examinait le liquide des infusions de foin ou de viande : les éléments mobiles contenus dans ces infusions devenaient assez rapidement immobiles au centre, mais demeuraient agités à la périphérie, là où l'oxygène de l'air pouvait pénétrer pour remplacer celui que sans doute consomment les microbes de la liqueur.

Le vibrion butyrique se comporterait-il donc à l'inverse de ces éléments mobiles ? L'oxygène de l'air serait-il pour lui un poison ? Le mettrait-il en état de mort apparente, le tuerait-il ? Alors que ce même oxygène est indispensable à la vie active de nombreux microbes des infusions.

Expérimentons. Reprenons le liquide artificiel de fermentation lactique stérilisé par la chaleur et contenant du lactate de chaux. Faisons-le traverser par un courant prolongé d'acide carbonique pour entraîner jusqu'aux dernières traces de l'air présent. Ajoutons une goutte d'une liqueur contenant des vibrions butyriques, en veillant à ce que l'air ne puisse pénétrer, soit pendant l'ensemencement, soit plus tard, ni dans le liquide, ni même dans le ballon contenant le liquide. La fermentation butyrique se développe. Faisons maintenant barbotter de l'air dans le liquide, la fermentation butyrique s'arrête totalement et ne reprend que si on chasse la totalité de l'oxygène présent. Il suffit même de faire passer quelque faible quantité d'air dans l'atmosphère du ballon pour voir rapidement la fermentation se ralentir et bientôt s'arrêter.

Le vibrion butyrique est l'un des types les plus parfaits, peut être même le type le plus parfait *du microbe anaérobie* ; il ne vit, ne se développe, n'agit que dans les milieux rigoureusement privés d'oxygène. *La fermentation butyrique est le type le plus parfait des fermentations anaérobies,* se produisant en l'absence de l'air et ne se produisant qu'en l'absence de l'air.

Nous reconnaissons nettement que dans la fermentation butyrique deux choses sont à considérer : la *cause* de la fermentation représentée par le vibrion butyrique, et les *conditions* de la fermentation représentées par l'absence totale d'oxygène dans le milieu. Nous revenons là sur des considérations déjà exposées, parce qu'on ne saurait trop insister sur ces notions, en raison de ce qu'en pathologie microbienne, trop souvent on n'a considéré que la cause, représentée par le microbe pathogène, sans tenir compte des conditions, représentées par telle ou telle qualité du milieu, et c'est profondément regrettable.

Nous avons parlé de la vie anaérobie de la levure et du ferment lactique. Il convient de séparer nettement cette vie anaréobie de la levure et celle du vibrion butyrique. La levure peut vivre à l'air, en aérobie, transformant le sucre en acide carbonique et eau ; le vibrion butyrique ne vit pas au contact de l'air et n'y produit aucune action chimique. La levure est immergée dans un liquide où l'air ne tarde pas à se raréfier et elle y produit la fermentation alcoolique, justement quand cette raréfaction a atteint un certain degré ; mais nous avons noté qu'il s'agissait de raréfaction de l'air et non de suppression totale, car, en cas de suppression totale de l'air, la levure n'agit plus. Et peut-être aurions-nous dû, au mot anaérobie substituer, dans le cas de la levure, un autre mot plus précis et plus nuancé que

celui-là. Mais *pour le vibrion butyrique, le mot anaérobie, pris dans son sens le plus strict, est rigoureusement exact.*

Dans la nature, l'*oxygène est partout*. Comment peut-il y avoir des fermentations butyriques spontanées, puisque celles-ci ne se produisent qu'en l'absence de l'air ?

A du lait naturel ajoutons une trace d'un lait ayant fermenté spontanément, présentant successivement la fermentation lactique, puis la fermentation butyrique. Nous voyons s'établir une fermentation lactique, puis une fermentation butyrique, plus ou moins tôt selon les circonstances : cette fermentation se produisant d'autant plus vite et d'autant mieux que le lait est en plus grande épaisseur, c'est-à-dire dans des conditions moins favorables à sa saturation en oxygène. Est-il absurde de supposer que, dans cet essai, des microbes aérobies introduits avec le vibrion butyrique, peut-être le ferment lactique (aérobie et anaérobie selon les circonstances), ont consommé l'oxygène de la liqueur et rendu possible la fermentation butyrique.

Voilà un exemple (intéressant pour les cliniciens) de la *collaboration de deux microbes*, l'un modifiant le milieu (en le privant d'oxygène), et le rendant apte à assurer le développement du second.

Quand nous aurons ajouté que le vibrion butyrique ne provoque pas de fermentation dans les milieux chloroformés à saturation, dans lesquels il est en état de mort apparente ; quand nous aurons noté qu'il est ferment, sa quantité étant très petite par rapport à la quantité de substance transformée, nous aurons achevé son histoire.

Rien dans cette histoire ne bouleverse les conceptions que nous avons des fermentations à la suite des premières études. Ici en effet *une transformation chimique est la conséquence de la présence, de la vie, de l'action d'un microbe-ferment.*

— La même conception est valable pour la *fermentation ammoniacale de l'urée*. Si on abandonne de l'urine à l'air en vase ouvert, elle se trouble ; sa réaction primitivement acide devient alcaline ; l'urée diminue jusqu'à disparaître ; du carbonate d'ammoniaque se forme en quantité équivalente à la quantité d'urée disparue.

La réaction correspond à la formule

$$\underset{\text{Urée}}{CO(NH^2)^2} + 2H^2O = \underset{\text{Carb. d'Ammon.}}{CO^3(NH^4)^2}$$

C'est là une simple hydratation, dont un type chimique différent de ceux que nous avons rencontrés. Répétons : ce n'est pas l'identité des réactions chimiques qui confère aux fermentations leur unité.

En examinant l'urine devenue ammoniacale, on y découvre des microbes sphériques, ou *Micrococques* de 1 à 1 μ 1/2, parfois isolés, parfois réunis par deux, parfois formant de longues chaînettes sinueuses : c'est l'agent de la fermentation ammoniacale.

Les savants qui soutenaient que les fermentations sont déterminées par la décomposition spontanée de substances organiques contenues dans la liqueur, considéraient surtout les *putréfactions* : on assiste là à une série de réactions chimiques correspondant aux divers stades du phénomène et se succédant pour ainsi dire automatiquement quand la désagrégation moléculaire a été déclenchée.

Les savants qui considèrent les fermentations comme des manifestations chimiques de la vie de microbes, se sont appliqués à établir que l'*acte chimique d'une fermentation est unique*. Si plusieurs réactions chimiques se produisent successivement, il convient de les considérer comme les témoins de plusieurs fermentations distinctes. Voici les faits.

Si dans du lait on ajoute un peu de vieux fromage, on constate qu'il s'y forme de l'acide lactique tout d'abord, et de l'acide butyrique plus tard. Mais ces deux productions chimiques ne se commandent pas nécessairement : la fermentation lactique ne précède pas toujours la fermentation butyrique et celle-ci ne succède pas toujours à celle-là.

Préparons de l'eau de levure sucrée et carbonatée ; ensemençons-y une culture pure de ferment lactique, une fermentation lactique s'y établit qui peut être rapide ; il ne s'y produira pas de fermentation butyrique. Ensemençons dans une même liqueur une culture pure de vibrion butyrique, après avoir chassé l'air dissous par l'ébullition et pris des dispositions pour mettre la liqueur à l'abri de l'air, une fermentation butyrique s'y développe, sans qu'à aucun moment on ait pu reconnaître même des traces d'acide lactique. Donc quand le lait présentait les transformations successives que nous avons notées, d'abord production d'acide lactique, ensuite dégagement gazeux et production d'acide butyrique, il s'agissait de deux fermentations distinctes et non pas d'une seule fermentation, ces fermentations distinctes se produisant quand sont réalisées dans le milieu les conditions nécessaires.

Le microbe est l'agent spécifique d'une fermentation, c'est-à-dire qu'un microbe donné est apte à produire une certaine transformation chimique et non pas une autre, même si les conditions physiques et chimiques du milieu sont modifiées : la levure engendre la fermen

tation alcoolique mais elle n'engendre ni la fermentation acétique, ni la lactique, ni la butyrique, ni l'ammoniacale, etc.

Sans doute, *une même fermentation peut être produite par diverses variétés ou espèces de microbes, généralement voisines morphologiquement et biologiquement, mais un microbe donné n'engendre qu'une fermentation.*

La fermentation alcoolique, p. ex., est produite par la levure de bière (Saccharomyces cerevisiae) ou par la levure de vin (S. ellipsoïdeus) ou par plusieurs autres espèces de saccharomyces ; mais aucun de ces ferments alcooliques ne produit une fermentation autre que l'alcoolique. La fermentation lactique est produite par le bacillus lacticus, par le bacillus lacti aerogenes, par le micrococcus acidi lactici, etc., ces divers ferments étant inhabiles à engendrer une fermentation autre que la fermentation lactique, etc.

Dans chaque fermentation, quelle que soit la variété du ferment qui l'engendre, il y a *un fait chimique fondamental* : tous les ferments alcooliques dédoublent le sucre en alcool et acide carbonique, tous les ferments ammoniacaux hydratent l'urée pour en faire du carbonate d'ammoniaque, etc. Mais, pour chacun d'eux, les réactions accessoires qui font apparaître dans la liqueur fermentée telle ou telle substance, sont spéciales ; c'est dire que s'*il est bon de conserver la notion d'une fermentation alcoolique ou lactique, il convient de distinguer des variétés,* caractérisées biologiquement par l'espèce du générateur, chimiquement par la composition du liquide fermenté.

Il serait assurément inadmissible de terminer ce chapitre sans écrire le nom de *Pasteur*. C'est à lui que sont dues les découvertes fondamentales dans le domaine des fermentations ; les autres savants n'ont guère fait qu'étendre et développer ses recherches et conclusions. C'est Pasteur qui démontra d'une façon irrévocable que les fermentations sont dues à la présence, à la vie, au développement des microbes ; c'est lui qui établit la spécificité des fermentations ; c'est lui qui le premier fit l'étude méthodique des principaux ferments ; c'est lui qui reconnut la double vie aérobie et anaérobie de la levure, et ses manifestations chimiques, c'est lui qui fit connaître le caractère anaérobie du vibrion butyrique, etc. Ses travaux sur les fermentations, les vins, la bière, le vinaigre correspondent à la plus formidable révolution, infiniment riche en conséquences doctrinales et pratiques, de toute l'histoire biologique.

CHAPITRE IV

LES DIASTASES MICROBIENNES

SOMMAIRE. — Les deux actes de la fermentation alcoolique de la saccharose. — Le liquide de macération de levure intervertit la saccharose ; signification physiologique de l'interversion. — L'agent d'interversion de la saccharose est une diastase, car il possède toutes les propriétés des diastases. — Le liquide de macération de levure ne contient pas d'agent capable de provoquer la fermentation proprement dite. — Dissociation des deux actes de la fermentation de la saccharose par le chloroforme ou par le fluorure de sodium : faits diastasiques et faits vitaux. — Le ferment butyrique et la diastase amylolytique qu'il sécrète : dissociation des deux actes de la fermentation butyrique de l'amidon. — Les ferments de l'urée et l'uréase. — Trois catégories de fermentations. — Simple coup d'œil sur la pathologie microbienne. — Encore les faits diastasiques et les faits vitaux. — Le suc de levure ; sa préparation, son action fermentative. — Le suc de levure ne doit pas ses propriétés à des fragments protoplasmiques vivants ; suc de levure chloroformé ou fluoré : résultats discordants. — Étude méthodique du suc de levure. — Alcoolase. — Rapprochement mais non identification des deux actes de la fermentation : diastases exocellulaires, diastases endocellulaires ; zymases.

Si on cultive de la levure sur un *liquide saccharosé,* la fermentation alcoolique se produit dans les mêmes conditions apparentes que si on la cultive sur un *liquide glycosé* ; mais si, pénétrant dans l'intimité de la réaction, on fait des déterminations pour écrire la formule de transformation, il faut distinguer les deux cas : si le sucre est de la saccharose, il y a hydratation puis décomposition en alcool et acide carbonique ; si le sucre est de la glycose, il y a décomposition sans hydratation.

Cette *hydratation de la saccharose est distincte de la fermentation proprement dite.* Dissolvons 10 pour 100 de saccharose dans l'eau ; ajoutons de la levure : la fermen-

tation se produit. Jetons sur un filtre pour séparer le liquide : celui-ci réduit la liqueur de Fehling que la saccharose ne réduisait pas. La saccharose a été transformée en sucre réducteur (*sucre interverti,* mélange à parties égales de glycose et de lévulose). La fermentation de la saccharose comprend donc *deux actes successifs* distincts ; l'*interversion du sucre* et la *fermentation du sucre interverti.*

L'interversion de la saccharose se fait hors de la levure, dans la liqueur où elle se développe, car on peut reconnaître en cette liqueur l'*agent de l'interversion.* Lavons de la levure pour la débarrasser de ses souillures, mettons-la en suspension dans l'eau (10 vol. par exemple), abandonnons quelques heures (6 à 12) au laboratoire, jetons sur un filtre et recueillons le liquide. Ce liquide provoque rapidement l'interversion de saccharose qu'on lui ajoute, donc il contient l'agent inversif : ce dernier dérive de la levure à coup sûr, mais ici il agit indépendamment de la levure. Le *liquide de macération de levure* est d'ailleurs inapte à provoquer le dédoublement du sucre en alcool et acide carbonique ; ce dédoublement ne s'accomplit qu'en présence de levure.

L'interversion de la saccharose dans la fermentation a, semble-t-il, la même *signification biologique* que son interversion dans la digestion des animaux supérieurs (la saccharose est intervertie par le suc intestinal avant d'être absorbée), C'est une transformation préalable ou digestive, tendant à rendre assimilable, c'est-à-dire utilisable une matière qui ne l'était pas.

L'analogie entre la nutrition de la levure et celle des animaux supérieurs peut d'ailleurs être poursuivie : les animaux supérieurs absorbent la glycose, la galactose, la lévulose sans les transformer, ces sucres étant assimilables ; la levure n'impose, elle non plus aucune transformation à ces sucres avant de les utiliser dans la fermentation.

L'agent qui, dans la macération de levure, possède la propriété d'intervertir la saccharose, est une *diastase,* car il possède toutes les propriétés d'une diastase.

Portée à 100° la macération de levure a perdu la propriété d'intervertir la saccharose ; or les diastases sont

détruites par la chaleur à une température généralement inférieure à 100°.

Traitée par 3 ou 4 vol. d'alcool à 95 pour 100, la macération de levure précipite ; le précipité desséché à basse température se redissout partiellement dans l'eau ou dans la glycérine, communiquant à ces liquides la propriété d'intervertir la saccharose ; or les diastases sont précipitées par l'alcool, et après dessiccation se dissolvent dans l'eau ou dans la glycérine.

Additionnée de phosphate de soude puis de chlorure de calcium, la macération de levure se remplit d'un précipité de phosphate de chaux qui fixe et entraîne l'agent d'interversion, comme il fixe et entraîne les diastases dans les liqueurs diastasiques. Séparé du liquide dans lequel il a pris naissance, mis en suspension dans l'eau et traité par un peu d'acide, le précipité se redissout en communiquant à la liqueur soit la propriété diastasique, soit la propriété d'intervertir la saccharose.

Et si nous passions en revue toutes les propriétés des diastases et toutes les propriétés de l'agent d'interversion que nous étudions, nous trouverions partout et toujours *la plus remarquable concordance.* Diastases et agent d'interversion *n'agissent pas à 0°* et pour les températures supérieures excercent sur les substances transformables une action d'autant plus puissante que la température est plus élevée jusqu'à un optimum généralement compris entre 40 et 50°. Diastases et agent d'interversion *agissent en quantité infiniment petites* pour provoquer *la transformation chimique de quantités de matières infiniment grandes* par rapport à leur masse. Diastases et agent d'interversion *ne disparaissent pas en agissant,* et demeurent dans la liqueur en quantité toujours la même quelle que soit la grandeur de l'action chimique accomplie.

Ainsi donc la levure, au moins dans les milieux saccharosés, accomplit une partie de son travail chimique à l'aide d'une diastase, l'*invertine de levure,* qu'elle déverse dans le milieu ambiant.

Nous avons déjà noté que la fermentation alcoolique

proprement dite, c'est-à-dire la décomposition de la glycose ou de la lévulose en alcool et acide carbonique ne se produit pas quand on mélange une macération de levure parfaitement filtrée avec une solution d'un de ces sucres directement fermentescibles. *Le liquide de macération de levure ne possède donc pas toutes les propriétés de transformateur chimique* que possède la levure, à laquelle il n'est pas pleinement équivalent. La levure confère au liquide dans lequel elle vit *une de ses propriétés,* mais *une seule* et *non pas toutes.*

Il est possible de *dissocier les deux actes de la fermentation de la saccharose* par quelques autres artifices que celui auquel nous avons recouru ci-dessus et qui consistait à séparer de la levure le liquide dans lequel elle avait vécu.

P. ex. une suspension de levure dans l'eau saccharosée, provoque l'interversion du sucre puis sa fermentation proprement dite ; mais cette même suspension de levure, additionnée soit de chloroforme ou d'éther à saturation, soit de fluorure de sodium à 1 °/₀, tout en accomplissant l'interversion de la saccharose ne produit plus la fermentation. Or le chloroforme et l'éther à saturation, le fluorure de sodium à 1 °/₀ suspendent ou suppriment toutes les manifestations vitales des éléments organisés, ne respectant que les actions diastasiques : c'est donc que l'*interversion de la saccharose n'est pas due à l'action actuelle d'un élément vivant* ; c'est donc aussi que *la fermentation est intimement liée à la présence actuelle* dans la liqueur d'*un élément vivant et actuellement agissant.*

On a exprimé nos conclusions sous la forme suivante. *L'interversion de la saccharose est un fait diastasique ; la fermentation est un fait vital.* Sans doute, la production d'invertine par la levure est la conséquence d'un acte vital, c'est-à-dire produit par la levure vivante et agissante ; mais, une fois cette sécrétion accomplie, la levure peut disparaître, mourir ou passer à l'état de vie latente, sans que la propriété invertine disparaisse avec elle. Par contre, l'action fermentative proprement dite de la levure a disparu en même temps que la vie active de la levure a cessé de se manifester.

— Considérons maintenant la *fermentation butyrique* ; choisissons un liquide fermentescible quelconque dans

lequel nous avons introduit de l'amidon à la place de sucre : la fermentation butyrique s'y développe quand on l'ensemence de vibrions, l'amidon étant transformé en acide butyrique, acide carbonique et hydrogène. Débarrassons le liquide de ses vibrions par filtration sur porcelaine, nous obtenons une liqueur qui possède la propriété de saccharifier l'amidon, mais qui n'engendre plus, même quand on lui ajoute du sucre, ni acide butyrique nouveau ni gaz. Cette liqueur doit *sa propriété amylolytique* à une *diastase* qu'on peut caractériser, isoler, etc., en utilisant les méthodes générales applicables aux diastases.

D'ailleurs si à une liqueur fermentescible amylacée ensemencée de vibrions butyriques on ajoute du chloroforme et de l'éther à saturation ou du fluorure de sodium à 1 pour 100, substances capables de supprimer les actions vitales en respectant les actions diastasiques, on reconnaît que l'amidon est saccharifié, mais que la fermentation butyrique ne se produit pas.

C'est la répétition exacte des faits observés dans l'étude de la fermentation alcoolique : deux actes sont à considérer, un acte préparatoire ou digestif ou diastasique, un acte essentiel, fermentatif ou vital.

Enfin, supposons qu'une urine ait subi la *fermentation ammoniacale* ; filtrons sur porcelaine dégourdie pour éliminer les microbes générateurs de la fermentation ; nous constatons que le liquide possède encore la propriété de transformer l'urée en carbonate d'ammoniaque : il la doit du reste à une diastase détruite à 70°, précipitée mais non détruite par l'alcool fort, capable de transformer en carbonate d'ammoniaque des quantités d'urée considérables, etc.

Dans la fermentation ammoniacale, telle qu'elle se produit naturellement, rien ne représente l'acte de fermentation essentielle que nous considérions dans les fermentations alcoolique ou butyrique ; *tout est diastasique*, et par là la fermentation ammoniacale se distingue absolument des fermentations antérieurement considérées.

Cette dernière remarque doit être précisée, car nous la répéterons ci-dessous à propos des microbes pathogènes et de leurs toxines ; les

microbes, agents des fermentations, étant les microbes chimiques.

Parmi ces microbes chimiques, *les ferments de l'urée* excrètent dans le milieu une diastase, l'*uréase*, qui, indépendamment du microbe générateur, transforme l'urée en carbonate d'ammoniaque, c'est-à-dire lui fait subir la transformation chimique caractéristique de la fermentation ammoniacale. Le microbe ne fait subir aucune transformation complémentaire, s'il est présent. Donc les ferments de l'urée, en déversant leur diastase dans le milieu, lui communiquent leur entier pouvoir transformateur ou de fermentation : la liqueur est, au point de vue fermentation, rigoureusement équivalente au microbe.

En un second groupe, nous rangeons *les ferments alcooliques et butyriques*, qui déversent dans le milieu des diastases capables de transformer certaines matières du milieu, pour les rendre utilisables dans la fermentation, — mais qui ne lui communiquent pas la propriété d'assurer la fermentation proprement dite, conservant jalousement pour eux-mêmes cette propriété. Ces ferments, en déversant leur diastase dans le milieu, lui communiquent une partie, mais une partie seulement de leur pouvoir transformateur chimique : la liqueur n'est, au point de vue chimique, que partiellement équivalente au microbe.

En un troisième groupe, nous plaçons *le ferment acétique*, qui ne fait pas passer de diastase dans le milieu, et qui doit être présent et agissant pour assurer l'entière fermentation acétique. Ce ferment ne communique au liquide sur lequel il s'étale aucune propriété transformatrice quelconque ; la liqueur demeure totalement passive au point de vue fermentation ; le microbe seul est actif.

Quand nous étudierons les microbes pathogènes, nous en trouverons qui déversent dans le bouillon de culture ou dans l'organisme des substances capables de provoquer tous les accidents consécutifs à l'infection correspondante, quand on les introduit dans l'organisme, exactement comme si on y introduisait la culture totale, bouillon et microbes ; nous en trouverons d'autres qui communiquent au milieu une partie seulement de leurs propriétés toxiques, de sorte que l'inoculation du bouillon sans microbes n'est pas équivalente à l'inoculation de la culture totale bouillon et microbes, car elle ne produit que quelques-unes des manifestations de l'infection ; nous en trouverons enfin qui ne communiquent au milieu aucune de leurs activités pathogènes, et qui doivent être nécessairement présents pour déterminer chacun des phénomènes élémentaires de l'infection.

Nous avons distingué dans les fermentations deux catégories de faits : *les faits diastasiques et les faits vitaux*.

Les uns et les autres, sans doute, sont sous la dépendance de la vie des microbes, les seconds parce qu'ils ne se produisent que là où se trouvent des microbes vivants et agissant, les premiers parce que, s'ils échappent à l'action directe et immédiate de la vie, ils en dépendent pourtant, car il faut un être vivant pour fabriquer et excréter dans le milieu les diastases qui en assurent la production. *Nous trouvons là vie partout dans les fermentations,* mais ici son action est *immédiate,* tandis que là, elle est *médiate*; ici elle est *à un seul degré,* là elle est *à deux degrés.*

Cette classification des faits de fermentations en deux catégories se fait aisément dans la pratique. Analysons les faits chimiques d'une fermentation engendrée par une culture microbienne pure agissant sur une substance organique donnée. Répétons les essais après avoir saturé les liqueurs de *chloroforme,* ou après y avoir dissous du *fluorure de sodium* à raison de 1 °/₀. Notons quels sont, parmi les faits chimiques de la fermentation, ceux qui se produisent dans ces conditions nouvelles, comme ils se produisaient en l'absence de chloroforme ou de fluorure, et ceux qui sont supprimés. On considère les premiers comme faits diastasiques, parce que le chloroforme et le fluorure n'entravent généralement pas les faits diastasiques ; on considère les seconds comme faits vitaux, parce que le chloroforme et le fluorure s'opposent à toutes les manifestations de la vie.

Toutefois cette conception doit être modifiée, en quelque manière, en raison des résultats d'expériences faites sur la levure et dont voici le résumé.

On peut, en broyant à l'aide d'appareils puissants de la levure de bière avec du sable siliceux et de la terre d'infusoires en désagréger à peu près tous les éléments, puis, en comprimant à l'aide d'une presse hydraulique donnant 500 atmosphères la masse visqueuse et pâteuse obtenue, en retirer du *suc de levure,* qui se présente, après quelques filtrations sur papier, comme un liquide clair, ne renfermant pas de globules de levure intacts et cultivables.

Or, si on mélange parties égales de ce suc de levure et d'une solution de sucre à 10 pour 100, on provoque sans retard un dégagement d'acide carbonique, très abondant, en même temps que l'alcool s'accumule dans la liqueur, le rapport de la quantité d'alcool produit à la quantité

d'acide carbonique dégagé étant égal au rapport des quantités correspondantes dans la fermentation alcoolique normale.

Les résultats sont identiques, que le sucre employé soit de la saccharose, de la glycose, de la lévulose, de la maltose ou de la galactose ; la fermentation ne se produit pas quand le sucre est du sucre de lactose. *Le suc de levure se comporte vis-à-vis des divers sucres comme la levure elle-même.*

Le suc de levure convenablement préparé, ne renferme plus d'élément de levure intact et cultivable. Il est capable d'assurer sans le secours de ces éléments vivants la fermentation des sucres. Ne retrouvons-nous pas ici un résultat identique à celui que nous obtenions en réalisant, en dehors de la présence des cellules de levure, l'interversion de la saccharose par l'eau de macération de levure. Et si l'on prétendait que quelques cellules de levure, ayant échappé à la destruction lors du broyage et de la compression, ont peut être traversé les filtres et se trouvent dans le suc de levure, nous répondrions que l'intensité de la fermentation engendrée par le suc de levure est telle qu'elle ne saurait dépendre de la seule action de ces quelques cellules, si peu nombreuses qu'elles échappent à l'examen microscopique. *Le suc de levure possède donc la propriété de faire fermenter alcooliquement les sucres.*

Il convient de confirmer cette conclusion. Car si le suc de levure ne tient point en suspension des globules de levure, il renferme probablement d'abondants débris de leur protoplasma (il contient 10 °/o de protéines). Or nous ne savons pas si la désagrégation de la cellule de levure qui supprime son pouvoir de reproduction, supprime aussi et sans retard ses propriétés fermentatives. Il serait assurément imprudent de se contenter des faits énoncés pour conclure que la fermentation alcoolique peut se faire en dehors de la présence de matière vivante.

Si nous répétons l'expérience de fermentation du sucre par le suc de levure en saturant les liqueurs de chloroforme, nous constatons que la fermentation se produit aussi rapide et complète qu'en liqueurs non chloroformées. Or le chloroforme à saturation suspend toutes les activités vitales sans en respecter aucune ; c'est donc que la

fermentation en milieu chloroformé ne correspond pas à un acte vital, mais bien à un acte diastasique.

Si nous soumettons à l'action d'une centrifugation extrêmement puissante du suc de levure, nous devons déterminer le dépôt dans les couches profondes des éléments en suspension et notamment de ces hypothétiques parcelles protoplasmiques. Or des échantillons de suc de levure centrifugé pris à différents niveaux possèdent une même puissance de fermentation ; c'est donc que l'agent de fermentation contenu dans le suc de levure y est dissous, et ne saurait être un résidu protoplasmique encore organisé.

Enfin si on précipite le suc de levure par l'alcool, si on lave le précipité à l'alcool absolu et à l'éther, si on le dessèche, on constate que ce résidu broyé avec de l'eau confère à cette eau la propriété de faire fermenter le sucre. Dira-t-on que l'alcool absolu a respecté la vie des hypothétiques fragments protoplasmiques ? Ce serait absurde.

Tous ces faits et quelques autres sur lesquels il est inutile d'insister conduisent à cette conclusion que la fermentation alcoolique engendrée par l'action du suc de levure sur les sucres ne relève pas de la présence et de l'activité d'éléments vivants ou de fragments organisés d'éléments vivants. L'agent du suc de levure est comparable aux diastases. On lui donne le nom d'*alcoolase* (on avait proposé d'abord celui de *zymase*).

Ces résultats suggèrent quelques remarques. Dans la fermentation alcoolique tout au moins, la séparation que nous avons établie entre les faits diastasiques et les faits vitaux n'est pas aussi absolue que nous l'avions imaginé de prime abord, puisque le fait vital (que nous avions pris comme représentatif par excellence des faits vitaux) n'est, somme toute, qu'un fait diastasique. Qu'il s'agisse de l'interversion du sucre par l'invertine ou du dédoublement du sucre interverti en alcool et acide carbonique par l'alcoolase, nous avons dans les deux cas un acte qui relève de la vie de la levure, c'est l'élaboration de la diastase, invertine ou alcoolase, puis, dans les deux cas, nous avons un fait chimique ou diastasique indépendant, au moment où il se produit, de la levure.

Gardons-nous pourtant de tomber dans un excès en réunissant trop intimement l'invertine et l'alcoolase, car il y a entre elles d'importantes différences. L'invertine passe spontanément dans le liquide ambiant, et on peut par simple filtration avoir une solution d'invertine débarrassée de la levure génératrice, tandis que l'alcoolase ne passe pas dans le liquide ambiant, dans les conditions couramment

réalisées : ce n'est que par une intervention destructrice violente que nous l'avons retirée de la levure. L'invertine est une diastase exocellulaire, ce qui ne veut pas dire qu'elle n'est pas d'origine cellulaire, mais simplement qu'elle diffuse dans le milieu ambiant ; l'alcoolase est une diastase endocellulaire, c'est-à-dire qu'elle demeure dans le protoplasma générateur (sauf dans les conditions expérimentales ci-dessus notées). Si la première de ces diastases traverse les couches périphériques de la levure et si la seconde ne les traverse pas, c'est qu'il existe entre elles quelque différence notable, et qui se révèle à nous de façon très imprécise à coup sûr, mais qui se révèle pourtant au moins par cette différence physique.

Il est légitime de distinguer parmi les agents chimiques de la levure les *diastases proprement dites*, diffusibles dans le milieu et l'alcoolase, à laquelle il faudra peut-être réunir d'autres agents équivalents, non diffusibles dans le milieu, et que, les séparant des diastases proprement dites, nous grouperons sous le nom générique de *zymases*.

Existe-t-il des zymases plus ou moins semblables à l'alcoolase, produites par les microbes générateurs de fermentations, une zymase acétique, une butyrique, une lactique ? C'est possible, puisqu'il existe une alcoolase. Mais il serait imprudent de l'affirmer en l'absence de justification expérimentale : au moins faudrait-il prouver par des raisons aussi valables que celles que nous venons de fournir pour la levure que dans quelques ferments (3 ou 4, bien distincts) existe une zymase, pour avoir le droit de généraliser : toute génération prématurée est condamnable, et il serait prématuré d'en tenter quelqu'une avant d'avoir réuni plus de faits que nous n'en connaissons présentement.

En faisant ci-dessous l'étude des microbes pathogènes, nous aurons à rechercher s'il existe chez eux une endotoxine qui représenterait pour l'infection correspondante ce que l'alcoolase représente pour la fermentation alcoolique. Et c'est parce que le rapprochement s'imposera à notre attention, que nous avons précisé les importantes notions que nous venons de résumer.

CHAPITRE V

LES MALADIES MICROBIENNES

SOMMAIRE. — Fermentations et maladies microbiennes. — Maladies cliniquement définies et microbe-témoin. — La diphtérie et le bacille de Klebs-Löffler. — Le tétanos et le bacille de Nicolaïer. — La blennorrhagie et le gonocoque de Neisser. — La peste bubonique et le bacille pesteux. — Le choléra et le vibrion cholérique. — La fièvre typhoïde et le bacille d'Eberth. — Le microbe-témoin cause de la maladie. — Premières recherches sur des microbes pathogènes pour les animaux. — Le choléra des poules et son coccus-témoin : transmission de la maladie par inoculation du sang des animaux malades ; culture pure du microbe du choléra des poules. — Le charbon bactéridien du mouton ; bactéridie charbonneuse ; inoculation du sang bactéridien ; accidents locaux et infection générale : quelques qualités de l'agent pathogène. — Isolement et culture pure de la bactéridie. — Le choléra des poules et le charbon des moutons. — Le charbon bactéridien, maladie de l'homme : la pustule maligne et les accidents généraux. — Symptomatologie charbonneuse chez l'homme et chez le mouton. — Méthode générale d'étude expérimentale des microbes pathogènes de l'homme. — Le microbe de Klebs-Löffler est la cause de la diphtérie : isolement du microbe, et obtention de la culture pure ; vérification de sa pureté. — Infection expérimentale : les fausses membranes, l'infection généralisée, les paralysies post-diphtériques. — Le microbe du tétanos et le tétanos expérimental. — Le bacille pesteux et la peste expérimentale du cobaye et du rat. — Peste bubonique et peste pneumonique chez l'homme et chez l'animal : polymorphisme clinique de la peste. — Importante remarque sur quelques faits épidémiologiques. — Nouvel exemple de polymorphisme clinique ou expérimental. — Le streptocoque pyogène et les streptococcies humaines ; le bacille tuberculeux et les tuberculoses humaines ; les tuberculoses cliniques et la tuberculose bactériologique. — Clinique et bactériologie, digression psychologique. — De quelques difficultés que présente l'application de la méthode générale d'étude expérimentale et des moyens de les surmonter dans le cas du vibrion cholérique. — Le bacille d'Eberth est cause de la fièvre typhoïde ; difficultés de la démonstration expérimentale directe ; vérification par les conséquences. — Les familles patho-bactériologiques : streptocoques et staphylocoques ; bacille typhique

et bacille paratyphique. — Rappel de notions acquises dans l'étude des fermentations. — Associations microbiennes : strepto-staphylococcies : bacille typhique et bacille paratyphique. — Présentation sommaire de quelques bactéries, agents des maladies de l'homme. — Le coli-bacille, microbe pathogène facultatif et quelques microbes équivalents. — Remarque sur la cause et sur les conditions. — Des microbes invisibles. — Le microbe de la péripneumonie des bovidés, terme de passage entre les microbes visibles et cultivables et les microbes invisibles et incultivables. — Réserves prudentes à propos des microbes invisibles. — Reprise d'une question antérieurement résolue : le microbe visible est-il la cause de la maladie dont il est le témoin ; confirmation des conclusions antérieures. — Un simple mot sur quelques protozoaires parasites de l'homme.

Après cette rapide revue des propriétés essentielles des microbes à action chimique, agents des putréfactions et des fermentations, et des diastases qu'ils sécrètent, pénétrons dans le domaine de la *microbiologie pathologique*. Les études antérieures nous permettront de faire d'intéressants *rapprochements entre les microbes chimiques et leurs diastases* d'une part, et *les microbes pathogènes et leurs toxines* d'autre part, et de ces rapprochements nous saurons tirer profit.

Parmi les fermentations étudiées, il en est, les fermentations acétique et butyrique, p. ex., qui sont respectivement produites par des microbes d'une seule espèce ; parmi les maladies microbiennes, il en est aussi qui sont produites par une seule espèce (gonococcie p. ex.). Parmi les fermentations, il en est, la fermentation alcoolique, p. ex., qui peuvent être produites, avec des variantes de détail, par des microbes appartenant à des espèces différentes, voisines d'ailleurs morphologiquement et physiologiquement ; parmi les maladies microbiennes, il en est qui peuvent être produites par des microbes de plusieurs espèces, voisines du reste (le choléra et les divers vibrions cholériques, p. ex.).

A l'origine, les fermentations étaient définies non par le microbe cause de la fermentation, mais par les manifestations chimiques de la fermentation ; ce n'est que plus tard, grâce au développement des études scientifiques, qu'on a pu les définir par les microbes causes de la fermentation. A l'origine, *les maladies microbiennes étaient définies par leurs manifestations cliniques* ; ce n'est que plus tard, grâce au développement de nos connaissances microbiologiques, qu'on a pu les définir, ou tout au moins en définir quelques-unes *par les microbes causes de ces maladies.*

Il existe un certain nombre de maladies de l'homme et des animaux qui relèvent du parasitisme microbien, c'est-à-dire de la présence, du développement, de l'activité

de microbes spécifiques dans l'organisme, comme les fermentations relèvent de la présence, du développement, de l'activité de microbes spécifiques dans certains milieux chimiques. On les appelle *maladies microbiennes.*

Avant tout, il convient de démontrer qu'il existe des maladies microbiennes définies comme il vient d'être dit. La démonstration comprendra deux temps : nous établirons d'abord que, dans certaines maladies cliniquement caractérisées, il est possible de manifester la présence de microbes appartenant à une espèce définie, toujours la même pour une maladie cliniquement définie, de sorte que ces microbes sont au moins les *témoins constants, spécifiques* de la maladie à laquelle ils correspondent ; — nous établirons ensuite que ces *microbes-témoins* sont vraiment *la cause de la maladie* considérée, qu'ils provoquent par leur présence, leur développement et leur activité biologique.

Les cliniciens ont magistralement décrit *la diphtérie pharyngée et laryngée* et fixé ses caractères essentiels. La maladie est révélée cliniquement par l'existence et les conditions d'apparition de *fausses membranes* à trame fibrineuse, le plus souvent épaisses, opaques, généralement blanc jaunâtre ou grisâtre, adhérant fortement aux amygdales, au voile du palais, à la luette, aux muqueuses pharyngée et laryngée, essentiellement envahissantes, se reproduisant avec la plus grande facilité quand ont les a détachées. Le diagnostic s'impose d'ordinaire dès le premier examen de la gorge ; il est confirmé par les manifestations morbides générales que présente le sujet et par l'évolution de la maladie. *La diphtérie pharyngée et laryngée représente bien une unité clinique.*

Quand on examine au microscope les fausses membranes diphtériques convenablement traitées en préparations dissociées ou en coupes minces, on y trouve sans exception, parmi un certain nombre d'autres espèces microbiennes (dont la présence n'est pas aussi constante), un *bacille* constitué en général par des bâtonnets droits ou courbes à extrémités arrondies et un peu renflées, mesurant de coutume de 2 1/2 à 3 μ de longueur et 2/3 μ de largeur, et dont on parfait la caractérisation par la description de ses réactions colorées et des cultures qu'il

donne sur les milieux couramment employés en microbiologie.

Cette bactérie, qu'on appelle le *bacille de la diphtérie,* ou *bacille diphtérique,* ou *bacille de Klebs-Löffler* se manifestant toujours dans les fausses membranes diphtériques à qui sait l'y chercher, est le *témoin bactériologique constant de la diphtérie.*

La présence de ce bacille dans les fausses membranes diphtériques est si constante qu'on recourt à l'examen bactériologique pour confirmer rapidement un diagnostic de diphtérie que l'évolution de la maladie ne préciserait que plus tard. Et cela permet, dès le premier examen, de distinguer la diphtérie de plusieurs autres affections (dont la gravité et l'évolution clinique diffèrent de celles de la diphtérie), qui peuvent comporter le développement de fausses membranes, ressemblant macroscopiquement plus ou moins exactement à celles de la diphtérie.

Le diagnostic clinique du *tétanos d'origine traumatique* est en général des plus faciles. Le sujet présente une plaie qu'on soigne depuis quelque temps. Cette plaie était irrégulière, anfractueuse ; elle avait été souillée de terre ; elle était encombrée de tissus déchiquetés, mortifiés, entremêlés de sang coagulé : la restauration paraissait se faire normalement avec l'aide du traitement. Un jour la plaie change d'apparence : la suppuration est tarie, la cicatrisation cesse de progresser, la région traumatisée devient douloureuse, et les douleurs s'irradiant dépassent largement les limites de la plaie. Le tétanos va éclater. A une raideur douloureuse de la nuque et du dos succède le trismus, c'est-à-dire que les mâchoires sont serrées l'une contre l'autre par suite de la contracture des masséters et des ptérygoïdiens internes ; puis, peu à peu, les crampes infiniment douloureuses s'étendent à la musculature tout entière ; la tête et le tronc se renversent en arrière ; les membres se fixent dans une position typique, les membres supérieurs en flexion, les membres inférieurs en extension ; le ventre est creusé par la contraction des muscles de la paroi ; le visage présente une expression étrange, résultant de la contracture des muscles de la face. La rigidité musculaire du malade n'est d'ailleurs pas uniforme : au début, elle présente des rémissions ; plus tard, tout au contraire, elle présente une exagération sous forme de spasmes paroxystiques, qui apparaissent soit spontanément, soit à l'occasion d'un attouchement, d'un frottement, d'une excitation légère, et durant lesquels le visage devient grimaçant, le tronc se

plie en arrière, les membres se raidissent au maximum, les douleurs présentent l'acuité la plus extrême. Voilà un mal facile à diagnostiquer et qui représente au plus haut point une unité clinique.

L'examen microscopique des liquides suintant d'une plaie tétanigène (pus et sérosité) permet d'y reconnaître, parmi des débris cellulaires divers, des microbes d'assez nombreuses espèces en général, et notamment un *fin bacille* qui s'y rencontre sans exception et qu'on peut caractériser par ses diverses réactions et propriétés. C'est un bacille très grèle, dont les extrémités sont légèrement arrondies (de 3 à 5 μ de longueur, de 0,3 à 0 μ 5 de largeur), anaérobie et présentant (en l'absence de l'air) de lents mouvements onduleux, pouvant produire une grosse spore qui se développe à l'une de ses extrémités, lui donnant l'apparence d'une épingle.

C'est le *bacille du tétanos* ou *bacille de Nicolaïer,* témoin microbiologique du tétanos traumatique. Notons que ce bacille est anaérobie, et remarquons à ce propos, que nous rencontrons en microbiologie pathologique comme en microbiologie des fermentations des agents aérobies et des agents anaérobies.

Le *blennorragie* représente un troisième exemple d'affection facile à diagnostiquer et représentant une unité clinique. Un écoulement opalescent tout au début, mais bientôt opaque, nettement purulent, blanc jaunâtre, puis jaune verdâtre, se produisant à l'extrémité de l'urèthre ; des modifications d'apparence du méat urinaire, du gland, du prépuce ; des mictions douloureuses, des érections fréquentes, etc., voilà un ensemble de faits qui permettent au médecin de poser un diagnostic ferme.

Si on examine au microscope le pus blennorragique, on y trouve comme éléments figurés des cellules épithéliales uréthrales et des globules de pus. Parmi ceux-ci, il en est (peu au début de l'affection, mais beaucoup dans la suite) dans lesquels on reconnaît des *coccus* parfois fort nombreux (en général de 10 à 80, exceptionnellement 100 et plus) ; il existe d'ailleurs quelques rares coccus dans le sérum du pus, entre les éléments cellulaires, surtout au début de l'affection.

Ces coccus ont de coutume 1 à 1 μ 1/2 suivant leur grand diamètre; ils sont d'ordinaire réunis par deux formant des couples ou diplocoques (quelquefois groupés en petits amas). Les coccus groupés par deux ne sont pas sphériques, mais ovalaires ou plus exactement réniformes se regardant par leur face concave.

On les appelle *gonocoques* ou *Micrococcus gonorrheae* quelquefois *gonocoques de Neisser*. Ce sont les témoins microbiologiques de la blennorragie.

La *peste bubonique* est une maladie généralement épidémique et qui n'offre pas de difficulté de diagnostic. Un sujet est pris d'un violent accès de fièvre (la température atteint et dépasse 40°) avec céphalalgie intense; il est en état de prostration profonde, il peut avoir du délire. Déjà, le second ou le troisième jour de la maladie, commencent à se constituer les bubons (on appelle ainsi des masses de ganglions lymphatiques, plus ou moins volumineux, de consistance pâteuse en raison de l'infiltration œdémateuse et hémorragique qu'ils ont subie, et très douloureux), siégeant d'ordinaire au pli de l'aine, ou parfois à l'aisselle, au cou, etc., ne tardant pas à suppurer (si le sujet n'est pas rapidement emporté par la maladie) et à constituer un abcès qui s'ouvre bientôt au dehors. Ces manifestations suffisent pour permettre de faire le diagnostic en temps d'épidémie; ce diagnostic sera confirmé, s'il en est besoin, par l'étude des phénomènes généraux et de l'évolution de la maladie. La peste bubonique est donc une affection cliniquement définie.

Si on retire d'un *bubon pesteux* (avant qu'il suppure) un peu de suc à l'aide d'une fine aiguille enfoncée dans sa masse, on y reconnaît sans exception un microbe, *le bacille pesteux*. On le trouve aussi dans le sang, non pas toujours, mais au moins dans les cas cliniquement les plus graves.

Ce microbe est un court bâtonnet arrondi à ses extrémités, non mobile, ayant 2 μ de longueur au maximum et 1 μ de largeur au minimum : il a en réalité une forme plus ovalaire que bacillaire, ce qui lui a valu le nom qu'on lui attribue parfois de cocco-bacille. Cette détermination morphologique a été complétée par la description des colorabilités, cultivabilités, etc. C'est le témoin microbiologique de la peste bubonique.

Le *choléra indien* est bien défini par sa symptomatologie. Le sujet présente pendant plusieurs jours une diarrhée prémonitoire caractérisée par des selles fréquentes, d'abord fécaloïdes, puis bilieuses et enfin séreuses, sans coliques ni ténesme ; il n'y a pas de fièvre. Puis les déjections changent de caractère ; les selles se multiplient considérablement, le sujet rejette un liquide très aqueux, incolore, sans odeur fécaloïde, dans lequel sont en suspension des flocons blanchâtres riziformes (rappelant les grains de riz), qui sont des débris de muqueuse intestinale. A cette période de la maladie, le sujet a des crampes très douloureuses et des vomissements aqueux répétés ; son faciès est caractéristique : le visage est creusé et cyanosé, les yeux sont enfoncés dans l'orbite, etc., la peau des mains se plisse, les extrémités des membres se refroidissent. Si le malade meurt durant cette période algide, on trouve toujours à l'autopsie des lésions spéciales de la muqueuse de l'intestin grêle d'autant plus graves et étendues qu'on se rapproche plus du cæcum, sur la constitution desquelles il est inutile d'insister ici.

Dans le contenu intestinal des cholériques et dans la couche blanchâtre qui recouvre leur muqueuse intestinale, on trouve toujours, à côtés de microbes divers, un *microbe du groupe des spirilles,* le *bacille du choléra,* le *bacille-virgule* ou mieux le *vibrion cholérique.*

C'est un court bâtonnet de 1 μ 1/2 de longueur, de 0 μ 4 de largeur, plus ou moins incurvé, et qu'on peut caractériser et déterminer très exactement en suivant une technique exactement fixée. C'est le témoin microbiologique du choléra indien.

Voici enfin un sixième et dernier exemple (on pourrait en donner beaucoup d'autres) de ces remarquables rapports existant entre certaines maladies caractérisées par leurs symptômes cliniques et la présence dans l'organisme, en une région donnée, d'un microbe morphologiquement, chimiquement, biologiquement défini.

La *fièvre typhoïde,* plus difficile à caractériser au début de son évolution que les maladies dont nous avons parlé ci-dessus, ne saurait être méconnue par le clinicien, dans la majeure partie des cas, après quelques jours d'observation. En général, le malade, durant plusieurs jours, et avant d'avoir de la fièvre, se plaint de lassitude extrême, parfois de douleurs dans les masses musculaires ; il a une céphalalgie violente et des vertiges ; son sommeil est agité, coupé de rêves pénibles ; souvent il présente des troubles gastro-intestinaux ; parfois il a des épistaxis. Ce ne sont là que des prodromes, qui ne permettent

pas de poser encore un diagnostic. Puis la fièvre apparaît, progressivement ascendante, jusqu'à atteindre en quelques jours 40°, en même temps que s'aggravent tous les symptômes déjà notés. Le diagnostic devient possible. La température se maintient au voisinage de 40°, souvent même elle dépasse le soir 40° de quelques dixièmes, ne présentant qu'une chute matinale faible ne dépassant pas généralement 1/2 degré (d'où le nom de fièvre continue appliqué parfois à la fièvre typhoïde). Durant le jour, le malade est abattu, prostré, indifférent à tout ce qui l'entoure, le regard perdu dans le vague; la nuit, il a souvent un délire modéré et tranquille. La langue sèche, fendillée a une apparence très spéciale ; les troubles gastro-intestinaux sont aggravés ; les selles sont fréquentes, liquides, fétides, de couleur jaune ocré. Au début de la période d'état, on a pu affermir le diagnostic par l'observation de petites taches lenticulaires rosées s'effaçant complètement mais momentanément sous la pression du doigt, généralement disséminées en petit nombre au niveau de la paroi abdominale antérieure et accessoirement au niveau de la base de la poitrine, de la face interne des cuisses, etc. On a reconnu à la percussion de l'hypochondre gauche une tuméfaction très nette de la rate, à l'auscultation du thorax une congestion généralement légère de la base des poumons, à la palpation, un gargouillement dans la fosse iléo-cæcale, du météorisme dans tout l'abdomen; on a décelé un peu d'albumine dans l'urine, etc. Le diagnostic s'affirme plus encore à mesure que la maladie progresse et que s'exagèrent les phénomènes généraux déjà notés; il est confirmé par la durée et les caractères de l'évolution morbide, notamment par la courbe de température et parfois par les complications qui peuvent survenir aux diverses phases de la maladie, par la longue durée de la convalescence et parfois par les rechutes.

Quand le malade meurt en cours de maladie, on constate à l'autopsie, selon que la mort a été précoce, c'est-à-dire s'est produite pendant les premiers jours de la maladie, ou tardive, c'est-à-dire s'est produite durant la période d'état, soit une tuméfaction des plaques de Peyer et des follicules clos de l'intestin, soit une ulcération de ces mêmes éléments anatomiques.

S'il est quelquefois difficile, au début surtout, de poser un diagnostic ferme et d'éliminer la possibilité d'une affection (il en existe en effet) présentant avec la fièvre typhoïde des ressemblances plus ou moins étroites, il est à peu près toujours possible d'affirmer qu'un malade a eu ou n'a pas eu la fièvre typhoïde quand la maladie a pris fin. Aussi peut-on considérer la fièvre typhoïde comme représentant une unité clinique.

Si on soumet à la recherche microbiologique le sang des

typhiques ou leurs matières fécales (ou, à l'autopsie des sujets morts en cours de maladie, la paroi intestinale au niveau des plaques de Peyer ulcérées, le foie, les reins, la rate, les ganglions mésentériques), on y trouve un bacille dit *bacille typhique* ou *bacille d'Éberth.*

C'est un bacille court, ne mesurant que 1 à 2 μ de longueur sur 0,7 à 0 μ 9 de largeur, à extrémités légèrement arrondies, mobiles au moins dans certains milieux de culture : sa caractérisation rigoureuse est d'ailleurs assez délicate et demande des artifices divers de coloration, de culture, etc.

Voilà encore un microbe-témoin d'une affection cliniquement définie ; et son témoignage est si excellent qu'on procède à sa recherche pour fixer de bonne heure un diagnostic quand l'examen clinique ne permet pas de le faire à coup sûr.

En étudiant les fermentations, nous avons montré que les microbes se développant dans le milieu chimique convenable sont la cause de la fermentation correspondante ; il convient de *rechercher si les microbes-témoins des maladies cliniquement définies,* dont nous venons de présenter quelques types, *sont la cause de la maladie correspondante.*

Pour résoudre ce problème pathologique, il faut expérimenter et en particulier rechercher si l'introduction du microbe-témoin dans un organisme sain engendre la maladie correspondante. C'est dire qu'il n'est pas possible d'expérimenter sur l'homme, et que pour arriver à quelque conclusion, il faudra recourir à des artifices. Nous pouvons toutefois résoudre un problème équivalent en pathologie animale, car il est des *maladies des animaux caractérisées par leur symptomatologie* et dans lesquelles il existe un *microbe-témoin.*

Une épidémie, appelée *choléra des poules,* sévit parfois dans les basses-cours : c'est une maladie aiguë à évolution rapide (il ne s'écoule parfois que quelques heures entre l'apparition des premiers symptômes et la mort ; d'ordinaire la terminaison fatale ne se produit qu'au bout de 1 à 2 jours), et dont le diagnostic est facile à poser.

« L'animal en proie à cette affection est sans force, chancelant, les ailes tombantes. Les plumes du corps soulevées lui donnent la forme d'une boule. Une somnolence invincible l'accable. Si on l'oblige à ouvrir les yeux, il paraît sortir d'un profond sommeil. Bientôt les paupières se referment et le plus souvent la mort arrive, sans que l'animal ait changé de place, après une muette agonie. C'est à peine si quelquefois il agite les ailes pendant quelques secondes » (Pasteur). En général, on observe une forte diarrhée muqueuse et sanguinolente. A l'autopsie, on relève les signes caractéristiques d'une entérite hémorragique aiguë ; la rate et le foie sont volumineux, les poumons renferment des foyers de pneumonie, etc.

Si on examine le sang des poules malades, on y trouve toujours et généralement en grande abondance un microbe immobile, très petit, ovoïde un peu allongé, coccobacille par conséquent, *le microbe du choléra des poules*. On le retrouve dans les sécrétions bronchiques, dans le contenu intestinal, etc. *C'est le microbe-témoin de la maladie. En est-il la cause?*

A l'aide d'une pipette effilée prélevons un peu de sang dans une veine d'une poule malade, en opérant aseptiquement, et tout aussitôt injectons-le sous la peau ou dans les muscles pectoraux d'une poule saine. Au point d'inoculation se produit très rapidement une boule d'œdème, dans la sérosité duquel sont d'innombrables microbes du choléra des poules. Très rapidement aussi la maladie se développe avec son entière symptomatologie : hérissement des plumes, immobilité et somnolence, diarrhée, etc. ; la mort survient avant la fin du second jour, et, à l'autopsie, on constate les lésions intestinales, la tuméfaction du foie et de la rate, les noyaux pneumoniques, etc., le sang renfermant de très nombreux microbes du choléra des poules.

Résulte-t-il de cette expérience que le microbe contenu dans le sang de la poule malade et inoculé à la poule saine avec ce sang, soit la cause de la maladie que nous avons provoquée? Assurément, nous ne pouvons pas l'affirmer, car si, de toute évidence, l'agent pathogène est contenu dans le sang inoculé, rien ne prouve que cet agent soit le microbe plutôt que quelque autre élément du sang. Sans doute le microbe se multiplie rapidement dans l'organisme de la poule inoculée, mais rien n'établit que ce développement est la cause plutôt que la conséquence de

la maladie. La question posée demeure donc à résoudre.

Dans le sang retiré des vaisseaux de la poule malade, il y a d'une part des microbes vivants et cultivables en dehors de l'économie, d'autre part le sang dont les éléments ne demeurent pas indéfiniment vivants hors des vaisseaux, le sang dont les éléments non figurés ne sont pas vivants, et qui, éléments figurés et éléments non figurés ne se multiplient pas hors de l'organisme. Introduisons une gouttelette de sang microbien dans un bouillon de culture à 40° ; les microbes s'y multiplient, les autres éléments demeurent à un taux invariable. Après 48 h., ensemençons un second bouillon avec une gouttelette du premier, et recommençons de 48 en 48 h., afin d'obtenir une 20e, une 50e, une 100e culture. La dernière culture contient une infinité de microbes, comme la première et comme le sang dont on s'est servi ; mais les éléments non vivants de ce sang sont dilués à l'infini : si p. ex. à chaque ensemencement, nous avons introduit 1 c. c. de liquide dans 100 c. c. de bouillon, la 10e culture ne contient plus que

0,000 000 000 000 000 000 01 c. c.

du sang primitif, c'est-à-dire à peu près 0 ; quant à la 50e ou à la 100e culture, elle en renferme une quantité si infiniment petite, qu'on peut assurément dire qu'elle n'en contient plus.

Or, cette 50e ou cette 100e culture inoculée à une poule neuve lui donne le choléra des poules typique, évoluant avec tous les symptômes et avec la rapidité coutumière. N'est-ce pas la preuve indiscutable que le microbe est bien la cause de la maladie et non sa conséquence ?

Il est une maladie des animaux, le *charbon*, qui se développe sous forme épidémique particulièrement chez le mouton (on l'appelle alors souvent *sang de rate*), chez la vache, chez le cheval (on l'appelle alors souvent *fièvre charbonneuse*) et qui présente une symptomatologie généralement assez nette et une évolution assez typique pour que le diagnostic en soit relativement facile. A l'autopsie, on trouve la rate tuméfiée, le foie, les reins et les poumons congestionnés, le sang noir et visqueux, renfermant à côté des globules rouges agglutinés de très nombreux leucocytes, etc.

Si on examine le sang de l'animal malade, soit aussitôt après la mort, soit de préférence quelques heures auparavant, on y trouve une quantité considérable de microbes. Ce sont des *bacilles* constitués par un bâtonnet de 5 à 6 μ de longueur et de 1 à 1 μ 1/2 de largeur, coupé carrément à ses extrémités ; les bâtonnets sont isolés ou réunis en courtes chaînes de 2, 3 ou 4 éléments, rarement plus. Ils sont rigoureusement immobiles, et c'était pour rappeler cette immobilité absolue qu'on avait jadis imaginé le groupe des *bactéridies* ou *bacilles immobiles* ; souvent on appelle ce microbe *la bactéridie charbonneuse,* ou tout simplement *la bactéridie.*

On peut facilement provoquer le charbon chez un animal tel que le mouton, le cheval ou la vache. Inoculons sous leur peau en opérant aseptiquement une petite quantité de sang prélevé dans les vaisseaux d'un animal qui vient de mourir ou qui va mourir du charbon. Des accidents locaux se développent de façon très précoce (quelques heures), représentés par un œdème qui s'étend progressivement à partir du point d'inoculation pour envahir parfois une vaste région : le liquide de cet œdème renferme d'abondantes bactéridies reconnaissables à leur forme, à leur colorabilités, à l'ensemble de leurs caractères biologiques. Les accidents généraux sont plus tardifs (quelques jours) ; ils représentent fort exactement les accidents généraux du charbon spontané tels qu'ils se présentent chez un animal de même espèce. Dans les dernières heures de la vie ou aussitôt après la mort, la bactéridie existe innombrable dans le sang.

Donc, *qu'il s'agisse de charbon spontané ou de charbon expérimental, la bactéridie en est le microbe-témoin.* Notons pourtant qu'elle ne se trouve pas dans le sang à tous les stades de la maladie ; on ne l'y rencontre qu'à l'approche de la mort ou aussitôt après la mort.

La bactéridie est-elle la cause du charbon? Il ne serait pas sage de répondre affirmativement en se contentant de généraliser la conclusion tirée des expériences faites avec le microbe du choléra des poules, car dans le cas du choléra des poules, on trouve toujours le microbe dans le sang, dès qu'apparaissent les premiers symptômes de la maladie, tandis que dans le cas du charbon, la bactéridie n'apparaît dans le sang que tardivement,

longtemps après que se sont montrés les premiers symptômes charbonneux. La bactéridie est-elle la cause ou la conséquence du charbon ? La question doit être résolue directement.

On a tout d'abord fourni d'*approximatives réponses*, et que voici :

Inoculons sous la peau de moutons du sang aseptiquement prélevé chez un animal charbonneux soit pendant la première phase de la maladie et alors que le sang ne renferme pas de bactéridies, soit pendant la dernière phase et alors que le sang en est rempli ; nous ne provoquerons aucune maladie avec le sang ne contenant pas de bactéridies ; nous déterminerons un charbon typique avec le sang bactéridien. — Il n'est donc pas absurde de se demander si la bactéridie n'est pas la cause du charbon, mais il serait imprudent de répondre affirmativement parce que l'agent capable d'engendrer le charbon pourrait se trouver dans le sang à côté de la bactéridie, sans être nécessairement la bactéridie.

Supposons que nous inoculions sous la peau une brebis pleine avec du sang charbonneux bactéridien : la maladie se développe et provoque la mort. Le sang de la brebis renferme des bactéridies, mais le sang du fœtus n'en renferme pas ; or le sang de la brebis rend charbonneux le mouton auquel on l'inocule, tandis que le sang du fœtus ne provoque pas l'apparition du charbon. Le sang est donc capable ou incapable d'engendrer le charbon selon qu'il contient ou ne contient pas de bactéridies. Et pourtant la conclusion doit être réservée, parce qu'il se pourrait que l'agent charbonneux fût autre que la bactéridie partageant seulement avec la bactéridie la propriété de ne pas traverser la frontière placentaire.

Ces premières tentatives conduisent à des possibilités, à des probabilités même, si l'on veut, mais non à des certitudes, et nous avons besoin de certitudes.

Revenons donc à la méthode qui nous a servi ci-dessus quand nous traitions du choléra des poules. Préparons une culture pure de bactéridies, pratiquons des ensemencements en longues séries de façon à obtenir finalement une culture renfermant d'abondantes bactéridies, mais ne contenant plus rien de ce qui, dans la primitive culture, n'était pas bactéridie, la dilution considérable due aux ensemencements successifs ayant réduit tous ces éléments non vivants à zéro. Et cherchons si la dernière culture engendre le charbon aussi bien que la première.

La bactéridie se développe dans l'urine faiblement alcalinisée : dans 50 c.c. d'une telle urine stérilisée introduisons 1 goutte (1/20 c.c.) de sang charbonneux contenant des bactéridies et laissons la culture se faire à 37°. Faisons passer aseptiquement 1 goutte de cette culture dans 50 c.c. d'urine faiblement alcalinisée et stérilisée et continuons ainsi, de façon à faire 10, 20, 40 cultures successives. La quantité de matière sanguine non vivante introduite dans l'urine lors de la première culture et se trouvant encore dans la 40e ne représente plus, en raison de la dilution, dans cette 40e culture qu'une fraction de cette matière primitive qui aurait pour numérateur 1 et pour dénominateur 1 suivi de 120 zéros. Mathématiquement, cette fraction a une valeur infiniment petite ; pratiquement, elle est nulle.

Et pourtant cette 40e culture est apte à provoquer chez le mouton auquel on l'inocule un charbon identique, quant aux symptômes locaux et généraux, à l'évolution et à la rapidité de développement, à celui qu'on provoquerait en inoculant le sang charbonneux bactéridien.

La bactéridie est donc bien la cause du charbon, comme le microbe du choléra des poules était la cause du choléra des poules, comme la levure était la cause de la fermentation alcoolique.

Ces deux maladies des animaux, le choléra des poules et le charbon, conséquences l'une et l'autre du parasitisme microbien présentent de *remarquables analogies.* En particulier, toutes deux sont des *septicémies,* c'est-à-dire des infections dans lesquelles les microbes pathogènes apparaissent dans le sang pour s'y multiplier à l'infini, au moins à une certaine période de l'évolution de la maladie, au moins quand existent ses manifestations typiques. La reconnaissance et l'isolement du microbe spécifique en sont singulièrement facilités, car ce microbe est de coutume le seul qui soit dans le sang, et il suffit de retirer aseptiquement un peu de ce sang pour obtenir une culture pure du microbe.

Le charbon (on dit souvent le *charbon bactéridien* pour le distinguer d'une maladie des bovidés et des ovidés appelée *charbon symptomatique*) a la signification d'un trait d'union entre la pathologie microbienne animale et la pathologie microbienne humaine. On décrit sous le nom de *pustule maligne* une maladie de l'homme qui est l'équivalent du charbon dont nous venons d'amorcer l'étude chez le

mouton. Une vésicule est apparue en un point de la peau, au visage, au cou, aux mains p. ex., et qui semble d'abord banale ; elle se rompt bientôt laissant une ulcération à fond noirâtre, entourée d'une zone inflammatoire plus ou moins étendue, les ganglions lymphatiques correspondants étant généralement gonflés. Bientôt, le même jour, le lendemain, au plus tard le surlendemain, se montrent les phénomènes généraux : sensation de défaillance, prostration, etc., la maladie se terminant par la mort le plus souvent du 2e au 4e jour. A l'autopsie, on reconnaît la tuméfaction de la rate, la congestion du foie et des reins ; on trouve le sang noir et visqueux avec ses hématies accolées ; des bactéridies charbonneuses s'observent en abondance dans le sang.

Si on prélève un peu de ce sang aussitôt ou peu de temps après la mort et si on l'inocule sous la peau d'un mouton, on assiste à l'évolution typique du charbon : les phénomènes locaux et généraux apparaissant, se développant dans l'ordre de succession, avec la rapidité, les caractères et les conséquences qu'ils eussent présentés s'ils avaient été déterminés par l'inoculation de sang de mouton charbonneux. La pustule maligne est le charbon bactéridien de l'homme.

Peut-être fera-t-on remarquer qu'il existe au moins une différence entre la maladie de l'homme et celle du mouton : la première comporte une pustule cutanée, la seconde n'en comporte pas, que la maladie soit spontanée ou expérimentale (il ne se produit dans la maladie expérimentale qu'une infiltration œdémateuse). A vrai dire la différence est plus apparente que réelle. Il est en effet des cas chez l'homme où la pustule manque et où l'on reconnaît tout juste une rougeur au niveau d'une éraillure de la peau ; il en est d'autres où cette rougeur manque et où seuls apparaissent les phénomènes généraux comme dans le charbon spontané du mouton. Inversement, si dans ce charbon spontané du mouton la lésion cutanée fait défaut, il est possible d'en produire une en faisant l'inoculation expérimentale sous forme de scarification à l'aide d'une lancette souillée de sang charbonneux.

La différence notée entre le charbon spontané de l'homme et le charbon spontané du mouton est la conséquence de la différence du mode d'infection : chez le mouton, l'infection se fait par la muqueuse digestive éraflée par des particules alimentaires dures souillées de produits bactéridiens ; chez l'homme, l'infection se fait soit par piqûre de mouches charbonneuses (c'est-à-dire transportant des bactéridies prises sur des débris provenant d'animaux charbonneux) soit par souillure accidentelle de la peau excoriée ou lésée par des produits bactéridiens.

Notons avec soin, à cette occasion, que *la voie d'introduction du microbe pathogène peut exercer une influence sur la symptomatologie de*

la maladie correspondante, ou tout au moins sur certains éléments de cette symptomatologie.

Ces quelques indications nous montrent que le charbon maladie de l'homme, et qu'on ne saurait à coup sûr étudier expérimentalement en faisant des inoculations à l'homme, peut être étudié si on substitue à l'homme le mouton ou tel autre animal capable, comme le mouton, de contracter une *infection bactéridienne.*

Voici donc qu'une méthode s'offre à nous qui nous permettra d'analyser et de connaître les maladies microbiennes de l'homme. Elle consiste essentiellement à *inoculer dans des conditions convenables, à des animaux judicieusement choisis, soit des produits pathologiques prélevés chez l'homme, soit des cultures des microbes spécifiques, contenus dans ces produits,* qu'on en aura isolés pour les cultiver.

Appliquons cette méthode d'étude à deux cas, celui du *bacille de la diphtérie* (ou bacille de Klebs-Löffler) et celui du *bacille du tétanos* (ou bacille de Nicolaïer).

Supposons qu'un sujet présente les accidents de la diphtérie pharyngée : de fausses membranes, p. ex., se sont développées sur les amygdales, le voile du palais, les parties voisines ; nous avons reconnu sur un fragment de ces fausses membranes convenablement traitées le microbe-témoin constant de la diphtérie.

Pour établir qu'il est la cause de la diphtérie, nous allons le faire pousser en *culture pure* et l'inoculer à un animal d'essai.

Mais une difficulté se présente : pour obtenir une culture pure de bactéridie, il nous a suffi de prélever aseptiquement du sang charbonneux, car celui-ci ne contenait pas d'autre microbe que la bactéridie ; mais les fausses membranes diphtériques renferment toujours, à côté du microbe de la diphtérie, de nombreux microbes d'autres espèces, et qu'il nous faut éliminer. C'est là question de technique, et sur laquelle il suffira de fournir de très sommaires indications.

On introduira p. ex. une minuscule quantité de la matière renfermant le mélange microbien dans une grande quantité de liquide stérile ; on agitera pour répartir les microbes dans toute la masse liquide ; on pourra diluer encore cette suspension de microbes autant

qu'on voudra, puis on ensemencera une gouttelette de liquide en une série de bouillons de culture. Si la dilution est assez considérable, il se pourra qu'une gouttelette ne renferme qu'un microbe et qui donne en se développant dans le bouillon une culture pure. Peut-être aura-t-on la chance que cette culture pure soit celle du microbe spécifique.

On pourra frotter légèrement à la surface du produit plurimicrobien (fausses membranes diphtériques p. ex,) un fil de platine, puis tracer avec celui-ci à la surface d'un milieu de culture gélatiné ou gélosé des stries successives. Il se pourra (et cela se produit surtout au niveau des dernières stries) que les microbes déposés soient assez éloignés les uns des autres pour que les colonies dérivées ne soient pas confondues ; il suffira de prendre une parcelle de ces colonies séparées et de la transporter en bouillon pour avoir une culture pure.

Il sera possible enfin de combiner les deux procédés : une très petite quantité du produit plurimicrobien sera ajoutée à une grande quantité de liquide stérile, et violemment agitée ; une minuscule quantité de ce liquide sera introduite en un bouillon gélatiné liquéfié à la température de 40° et mélangée à la masse de ce bouillon. Par refroidissement, la gélification se produit, fixant là où ils se trouvent les microbes : ceux-ci en se développant peuvent fournir des cultures isolées, auxquelles on ira puiser pour obtenir les cultures pures.

Dans quelques cas particuliers où il s'agira d'isoler des microbes plus résistants que leurs voisins, on portera le produit plurimicrobien à une température suffisante pour tuer tous les microbes sauf celui qu'on se propose d'isoler ; ou bien on traitera le produit plurimicrobien par des antiseptiques ajoutés à dose suffisante pour détruire tous les microbes sauf le plus résistant d'entre eux.

Quand, par un procédé quelconque, on a obtenu la culture pure, on ne manque pas d'en *vérifier la pureté*, n'oubliant pas qu'en biologie, comme en arithmétique, il est nécessaire de *faire la preuve*. On prélèvera donc une trace de la culture supposée pure et on l'ensemencera en stries sur de la gélose, ou on la mélangera avec un bouillon gélatiné liquifié qu'on laissera refroidir. Tous les colonies qui se développeront sur ou dans ces milieux devront avoir la même apparence, les mêmes caractères macroscopiques et ne renfermer qu'un seul et même microbe reconnaissable à sa forme, à ses colorabilités, aux caractères de ses colonies poussées sur divers milieux, à ses propriétés biologiques ou chimiques, etc.

Ayant obtenu une culture pure du microbe-témoin de la diphtérie, nous faisons une longue série d'ensemencements successifs, afin de ne conserver que les microbes et d'éli-

miner tout produit non vivant provenant de la fausse membrane diphtérique dont on les a retirés. Et nous inoculons l'ultime culture au cobaye p. ex.

Au niveau du cou sur la ligne médiane, incisons la peau, les tissus prétrachéaux, la membrane unissant deux anneaux successifs de la trachée; introduisons dans la trachée par cet orifice une pointe de platine pour excorier la muqueuse sur une certaine étendue; promenons enfin un fil de platine trempé dans la culture microbienne pure sur la surface excoriée et suturons la plaie opératoire. Deux jours plus tard en général, le cobaye respire bruyamment; il est dyspnéique; sa température est supérieure à la normale, il meurt du 3e au 5e jour. A l'autopsie on trouve sur la muqueuse trachéale de fausses membranes typiques, adhérentes à la muqueuse, envahissant la totalité de la trachée et les grosses bronches, ayant la structure des fausses membranes de la diphtérie pharyngée de l'homme et renfermant d'innombrables bacilles diphtériques. C'est là l'exacte reproduction de la diphtérie pharyngée humaine.

Injectons, chez le cobaye, la culture diphtérique pure sous la peau; l'animal ne survit généralement pas au delà de 2 à 3 jours. A l'autopsie, on trouve au point d'inoculation un infiltration œdémateuse, parfois sanguinolente et un enduit grisâtre très limité ayant au moins des analogies avec une fausse membrane; les viscères sont congestionnés, etc. Cette diphtérie expérimentale rappelle la diphtérie infectieuse ou maligne de l'homme, dans laquelle les phénomènes locaux sont d'ordinaire peu développés, les phénomènes généraux donnant à la maladie sa caractéristique.

Parfois, chez l'homme, on observe à la suite de la diphtérie, pendant la convalescence généralement, des *paralysies spéciales*; c'est de coutume le voile du palais qui présente la première (parfois la seule) manifestation paralytique: la voix est altérée, la déglutition est gênée; puis sa paralysie envahit un ou plusieurs groupes de muscles sans ordre ni régularité d'ailleurs, aux membres, au tronc, à la face. D'ordinaire ces accidents, après avoir longtemps persisté (quelques semaines ou plusieurs mois) s'atténuent et disparaissent. Or on a pu obtenir des phénomènes paralytiques chez quelques animaux; on les a notés chez le pigeon auquel on avait pratiqué l'inoculation sur la muqueuse pharyngée, et chez le lapin auquel on avait fait une injection intraveineuse de culture diphtérique.

Le bacille diphtérique, témoin constant de la diphtérie, en est la cause, puisque, séparé des microbes divers qui l'accompagnent dans la fausse membrane, et cultivé en

longue série (afin que soient éliminées les matières non vivantes contenues avec lui dans la fausse membrane), il peut engendrer chez les animaux d'expérience une maladie qui comporte les diverses manifestations de la diphtérie humaine et particulièrement ces deux manifestations si typiques des fausses membranes et des paralysies.

Répétons cet isolement du microbe-témoin, en partant du liquide d'une plaie tétanique, et opérons en nous rappelant que ce microbe est anaérobie. Injectons un peu de la culture pure sous la peau d'un lapin p. ex. : nous assistons à l'établissement et à l'évolution du tétanos.

Après une incubation plus ou moins longue (un jour au moins, quelques jours au plus), les accidents apparaissent. Ce sont d'abord les muscles les plus voisins du point d'inoculation qui sont atteints : si l'injection a été faite au niveau de la cuisse, c'est la patte postérieure qui s'étend et s'immobilise contractée ; si l'injection a été faite au niveau de l'épaule, c'est la patte antérieure qui se raidit. Puis les contractures se généralisent et la mort survient.

A l'autopsie on ne trouve qu'une légère infiltration au niveau de l'inoculation, renfermant de rares bacilles tétaniques. Les organes viscéraux sont très faiblement congestionnés ; le sang ne contient pas de microbes tétaniques. A l'autopsie d'hommes morts de tétanos, on constate la même absence de graves lésions locales, et de congestions viscérales ; la même rareté des microbes témoins dans les tissus de la plaie tétanigène, la même absence de ces microbes dans le sang.

Le tétanos traumatique de l'homme et le tétanos expérimental du lapin présentent d'évidentes analogies.

Comme le tétanos expérimental succède à l'inoculation d'une culture pure dérivant d'une longue série d'ensemencements, on ne saurait douter que le microbe-témoin est la cause de ce tétanos expérimental et du tétanos traumatique de l'homme.

Notons pourtant entre ces deux tétanos une différence : chez le lapin les contractures débutent dans les muscles voisins du point d'inoculation, d'où, s'étendant de proche en proche, elles se généralisent ; chez l'homme, quelle que soit la région où siège la plaie tétanigène, les contractures apparaissent d'abord dans les muscles élévateurs de la mâchoire, puis dans les muscles de la région cervico-dorsale, la généralisation se faisant fort irrégulièrement, sans égard pour la zone infectée. Personne pourtant ne verra dans cette minime

dissemblance une raison suffisante pour nier la similitude des deux maladies considérées.

En poursuivant cette étude de la cause des maladies à témoins microbiens, on a observé des faits intéressants, et c'est pour les exposer beaucoup plus que pour compléter une démonstration dès maintenant parfaitement suffisante que nous allons passer en revue quelques autres maladies microbiennes.

Dans *le suc des bubons pesteux*, nous avons reconnu la présence d'un microbe, témoin constant de la peste bubonique, caractérisable par sa forme, ses colorabilités, les apparences de ses cultures. Isolons ce microbe en culture pure et faisons une longue suite d'ensemencements pour pouvoir expérimenter avec le bacille pesteux pur, débarrassé de tout ce qui pouvait l'accompagner dans le suc des bubons. Si nous inoculons une petite quantité de cette culture sous la peau du cobaye ou du rat, l'animal tombe malade et meurt.

A l'autopsie, on note une exsudation hémorragique au point d'inoculation ; les ganglions lymphatiques correspondant à la région d'injection sont fortement tuméfiés et leur masse est infiltrée de sérosité sanguinolente bourrée de microbes pesteux. La rate est volumineuse ; les poumons, le foie, les reins sont fortement congestionnés, parfois on y observe des infiltrations hémorragiques. Le sang renferme d'abondants bacilles. Or, chez l'homme, les bubons sont infiltrés d'une sérosité sanguinolente ; la rate est volumineuse, les viscères sont fortement congestionnés, des hémorragies s'observent dans les séreuses et dans les muqueuses, notamment dans la muqueuse gastro-intestinale. Le sang prélevé sur le cadavre (donc dans les cas mortels) contient de nombreux bacilles pesteux.

Ces faits établissent une analogie frappante entre la peste bubonique de l'homme et la peste expérimentale du cobaye ou du rat, et conduisent à la conclusion que le bacille pesteux est la cause de la peste bubonique de l'homme, comme il est la cause de la peste expérimentale du cobaye et du rat.

On a décrit chez l'homme, outre *la peste bubonique, une peste pulmonaire*, dans laquelle la manifestation clinique essentielle de la maladie est une pneumonie ou broncho-pneumonie (avec expectorations séro-sanguinolentes bourrées de bacilles), presque toujours mortelle et évoluant rapidement (en quelques jours, en 3 jours en général). A l'autopsie, on trouve des foyers pneumoniques dans les poumons ; les ganglions bronchiques volumineux ressemblent singulièrement aux bubons, le sang renferme d'abondants bacilles pesteux.

Expérimentalement, on provoque, chez le cobaye et chez le rat cette peste pulmonaire en leur faisant inhaler une fine poussière de la culture pure de bacilles pesteux ; la mort survient rapidement, et, à l'autopsie, on trouve les lésions pulmonaires et ganglionnaires telles qu'on les relève dans la pneumonie pesteuse de l'homme ; le sang renferme du reste d'abondants bacilles pesteux. — Et ces faits confirment encore l'identité des affections pesteuses spontanées de l'homme et des affections pesteuses expérimentales des animaux.

Un seul et même microbe, le bacille pesteux, est donc capable de provoquer deux maladies différant nettement l'une de l'autre, cliniquement, chez l'homme et chez les animaux, présentant un *polymorphisme clinique*, peut-on dire. Sans doute, qu'il s'agisse de peste bubonique ou de peste pulmonaire, on note la tuméfaction considérable de ganglions lymphatiques (superficiels dans le premiers cas, bronchiques dans le second) et leur infiltration séro-sanguinolente ; mais les symptômes généraux, l'évolution du mal et sa gravité diffèrent, tant et si bien que les cliniciens en auraient fait sûrement deux maladies distinctes, s'ils n'avaient considéré que leurs manifestations.

Les études bactériologiques, en nous apprenant que les deux maladies sont produites par un même agent et qu'elles ne sont que des apparences différentes d'un même mal, ont fait faire un considérable progrès scientifique et pratique.

En général, quand une épidémie de peste sévit en quelque lieu sur l'homme, on peut reconnaître que les rats subissent également une épidémie, qui est aussi la peste, ainsi qu'en témoignent les bacilles pesteux qui sont dans le sang des rats malades. Mais cette peste des rats affecte la forme pulmonaire, tandis que la peste de l'homme affecte le plus généralement la forme bubonique. Supposons que nous ne connaissions pas le bacille pesteux et que nous ignorions que la peste présente deux formes cliniques. Supposons qu'une épidémie de peste bubonique humaine éclate en une ville, et imaginons qu'on ait été renseigné sur l'existence d'une épidémie des rats se manifestant par des lésions pulmonaires, sans que les ganglions lymphatiques superficiels soient modifiés. Songerait-on à considérer la maladie des rats comme étant la même que la maladie des hommes ? Et s'aviserait-on de prendre des mesures contre les rats pour s'opposer à la propagation de la maladie des hommes ? Assurément non.

Le bacille pesteux n'est pas le seul microbe capable de provoquer des *maladies symptomatologiquement différentes suivant la localisation essentielle du microbe.* En voici, entre plusieurs autres, deux nouveaux exemples pris dans la pathologie humaine, celui du streptocoque pyogène et celui du bacille tuberculeux.

On trouve chez l'homme dans de nombreuses maladies nettement distinctes un même microbe, le *streptocoque pyogène* ; on le trouve dans le pus de certains abcès et phlegmons, et de certaines ostéomyélites, dans le sang au cours de diverses septicémies et plus spécialement des septicémies puerpérales, dans les tissus modifiés par l'érysipèle, dans le caillot contenu dans les veines oblitérées des nouvelles accouchées présentant de la phlegmatia alba dolens, etc., car nous pourrions allonger la liste. Ce streptocoque se présente sous forme de petits grains sphériques disposés en files ou chaînettes plus ou moins longues (3 à 6 grains pour les plus courtes, 50 à 60 et plus pour les longues). Le diamètre des grains peut varier de 0 μ 6 à 1 μ 3 selon l'origine. Le microbe est caractérisé par sa disposition en chaînettes, par la sphéricité de ses grains, par ses colorabilités, les apparences de ses cultures.

On peut expérimentalement reproduire les différentes formes des *streptococcies humaines,* en faisant varier les quantités de culture inoculées et en choisissant telles ou telles variétés de streptocoques. Inoculé p. ex. sous la peau de l'oreille du lapin, le streptocoque pyogène peut provoquer soit un petit abcès localisé, soit un phlegmon envahissant, soit une nappe érysipélateuse, soit une septicémie rapidement mortelle.

Il n'y a assurément ni identité ni même similitude entre les manifestations de l'abcès sous-cutané ou du phlegmon, celles de l'érysipèle spontané ou chirurgical et celles de la septicémie puerpérale. *La streptococcie* est donc *une affection polymorphe,* affectant telle ou telle forme, selon que le microbe a envahi tout l'organisme, ou s'est localisé en tel ou tel département du corps. On devra donc considérer des streptococcies diverses si on envisage les symptomatologies ; on ne pourra parler de streptococcie que si l'on considère l'agent déterminant de ces diverses affections cliniquement distinctes.

Voici un autre exemple. On trouve dans les crachats des phtisiques, parmi des microbes divers, un bacille, constitué par un bâtonnet grêle de 1 μ 5 à 3 μ 5, ne mesurant pas plus de 0,3 à 0 μ 5 de largeur, généralement tout à fait rectiligne, le *bacille tuberculeux* ou *bacille de Koch.*

Ce même bacille se retrouve dans les tissus ou dans les liquides de l'organisme, dans un très grand nombre de maladies éminemment dissemblables par leurs symptômes et par leur évolution, dans les pneumonies ou broncho-pneumonies dites tuberculeuses, dans certaines lésions osseuses, articulaires, cérébrales ou méningées, pleurales, péritonéales, intestinales, cutanées, etc., toutes ces maladies étant aujourd'hui appelées tuberculeuses, par quoi on les distingue des inflammations des mêmes tissus, relevant d'un autre microbe ou d'une autre cause. Or la méningite tuberculeuse et l'adénite suppurée, la laryngite tuberculeuse et la tumeur blanche du genou, la phtisie pulmonaire et la néphrite tuberculeuse représentent des types cliniques absolument distincts, non seulement par leurs localisations, mais encore par leur gravité, leur durée, leur évolution, leurs conséquences.

Aux *tuberculoses cliniques* si multiples et si dissemblables, nous pouvons, en nous plaçant sur le terrain bactériologique opposer *la tuberculose,* unique parce que dérivant de la présence et de l'activité pathogène d'un seul microbe.

Il n'est pas nécessaire de multiplier les exemples et d'insister. Si jadis on a manifesté une vive surprise parmi les biologistes et un profond scepticisme dans certains milieux médicaux en entendant affirmer que le furoncle, cette misère et l'ostéomyélite, cette grave maladie, étaient deux manifestations d'une même infection streptococcique (l'ostéomyélite étant, disait-on, le furoncle de l'os), aujourd'hui la notion de la multiplicité et de la diversité des manifestations cliniques d'une même infection nous est familière et ne provoque ni étonnement, ni opposition.

De ces importantes notions tirons quelques conclusions. Jadis la médecine des maladies microbiennes était exclusivement clinique : le médecin recherchait des symptômes, en déterminait la présence ou l'absence, en reconnaissait la gravité et en tirait des conclusions pour poser son diagnostic, instituer un traitement, prévoir et s'efforcer d'éviter les complications possibles, faire un pronostic, prendre toutes mesures utiles pour empêcher la contagion, etc. Aujourd'hui l'examen clinique ne paraît plus suffisant. On le complète et on précise les conclusions par l'étude bactériologique; on s'efforce de découvrir la cause de la maladie en quelque microbe qu'on caractérise par les diverses propriétés qu'il possède, forme, colorabilité, cultures, rôle pathogène, etc.

Et de procéder ainsi constitue un important progrès. L'examen clinique ne permet pas toujours de fixer d'emblée la nature du mal et d'en prévoir très exactement l'évolution ; l'examen bactériologique, au contraire, peut nous fournir immédiatement des données, grâce auxquelles nous pourrons faire de sûres prévisions. L'examen clinique ne permet pas toujours de recourir à coup sûr à la médication spécifique, quand nous en connaissons quelqu'une ; l'examen bactériologique y conduit de suite. L'examen clinique ne nous autorise pas toujours à prendre telles ou telles dispositions graves pour parer à la contagion, l'examen bactériologique nous amène sans retard à appliquer vigoureusement les mesures sévères, ou, tout au contraire, à n'y pas recourir inutilement, c'est-à-dire si elles ne s'imposent pas.

Un exemple pour préciser. Voici un malade chez lequel l'examen de la gorge révèle au médecin une *angine à fausses membranes*. Cliniquement ces angoisses évoluent suivant deux modes : tantôt les fausses membranes demeurent localisées sur les amygdales et les parties voisines ; c'est dire que l'obstruction des voies respiratoires ne se produit pas ; l'état général, d'autre part, peut temporairement paraître grave, mais une amélioration se produit assez rapidement et qu'on peut se borner à attendre en faisant une thérapeutique opportuniste ; la guérison est précoce et la convalescence courte ; — tantôt les fausses membranes sont envahissantes et pénètrent dans les voies respiratoires qu'elles obstruent plus ou moins complètement ; l'état général du sujet est grave et de plus en plus grave, la mort est la terminaison sinon fatale, au moins fréquente de la maladie, si l'on n'intervient pas thérapeutiquement avec la dernière énergie ; encore ne suffit-il pas toujours d'être énergique pour parer à la catastrophe. Sans doute le clinicien expérimenté saura souvent faire choix, entre deux possibilités, du diagnostic exact, nous n'osons pas dire par intuition, mais tout au moins parce qu'en très fin observateur qu'il est, il a reconnu quelque minuscule particularité qu'il sait caractéristique de l'angine diphtérique et non pas de l'angine non-diphtérique, ou parce qu'il a perçu quelque modification souvent très légère du faciès qu'il sait révélatrice de la gravité du cas, etc. Mais, d'une part, tout médecin n'est pas toujours et nécessairement, en toute circonstance, et avant d'avoir beaucoup pratiqué, un clinicien émérite, et, d'autre part, le parfait clinicien est parfois hésitant, incertain. L'examen bactériologique des fausses membranes lève ses

doutes, fixe son jugement, lui permet d'instituer la thérapeutique rationnelle, l'autorise à imposer, s'il s'agit de diphtérie, des mesures sévères d'isolement et de désinfection.

Quelques-uns, parmi nos contemporains, fortement impressionnés par la précision qu'apporte dans le diagnostic l'examen bactériologique des produits pathologiques, ont songé à conférer aux méthodes bactériologiques le droit exclusif de guider le médecin pour l'établissement de son diagnostic, de son traitement, des mesures générales à imposer; ils ont contesté la valeur qu'on attribuait jadis, avec quelque raison pourtant, semblait-il, à l'examen clinique proprement dit, en raison de ce que le jugement clinique n'est pas exclusivement scientifique, mais relève souvent d'impressions autant que de raisons.

A la vérité, le médecin doit être alternativement clinicien et bactériologiste. Il examinera son malade en clinicien tout d'abord, afin de faire un diagnostic au moins approximatif; il précisera ce diagnostic ou le confirmera par une détermination bactériologique, qui sera le plus souvent simple, parce que l'examen clinique préalable a limité considérablement le nombre des essais bactériologiques à faire. Puis il redeviendra clinicien pour émettre un pronostic, car il existe tant d'éléments qui concourent à sa fixation et si divers, que pronostiquer est un art beaucoup plus qu'une science, — pour régler avec minutie et délicatesse sa thérapeutique, car il existe tant de conditions auxquelles il faut l'adapter que traiter est aussi un art beaucoup plus qu'une science; — pour poser avec plus ou moins de rigueur les règles de protection contre la contagion selon le milieu dans lequel se trouve le malade et selon les formes générales dans lesquelles il est soigné, car ces règles n'ont d'efficacité que si elles sont rigoureusement adéquates à de multiples circonstances et conditions, et adapter sa conduite est ici encore plutôt un art qu'une science proprement dite. Celui-là seul sera un parfait médecin qui saura réunir en soi et utiliser à propos la science précise de l'homme de laboratoire et l'art infiniment nuancé du clinicien.

Pour étudier les maladies microbiennes de l'homme, pour établir notamment que le microbe-témoin est la cause de la maladie, nous avons recouru à un artifice expérimental : nous avons injecté la culture pure de ce microbe dans l'organisme d'un animal convenablement choisi. En inoculant la culture en diverses régions, en modifiant les conditions dans lesquelles ont été pratiquées

les inoculations, en faisant varier les modes de culture du microbe, nous nous sommes efforcés de provoquer, chez l'animal, l'apparition d'une maladie présentant avec la maladie de l'homme une identité plus ou moins complète, ou tout au moins une analogie suffisante, tant au point de vue des symptômes que de l'évolution et de la terminaison du processus, tant au point de vue des lésions anatomiques que des localisations microbiennes.

Parfois la pratique de cette méthode est rendue très difficile par suite d'une *inaptitude* plus ou moins complète *des animaux de laboratoire à contracter une maladie équivalente à la maladie de l'homme,* à la suite de l'inoculation du microbe-témoin. On s'efforce alors de trouver un animal sensible à l'action pathogène du microbe, ou bien de vaincre la résistance de l'animal d'expérience, soit par un choix judicieux des sujets, soit en recourant à des conditions spéciales d'inoculation.

Précisons. Dans le contenu intestinal et dans les évacuations des cholériques, on trouve un *vibrion* qui est le *témoin microbiologique du choléra.* Isolons-le et faisons-en une série de cultures pures.

Faisons ingérer a un cobaye un peu de cette culture pure de vibrion cholérique, nous ne provoquons pas le choléra intestinal. Injectons un peu de cette culture sous la peau ou dans les veines d'un cobaye, nous ne notons aucun phénomène morbide. Introduisons-en dans la cavité péritonéale en forte proportion, le cobaye devient malade et meurt après avoir présenté, dans les heures qui précèdent la mort, de l'hypothermie, c'est-à-dire un phénomène qui se présente dans le choléra humain ; mais nous ne trouvons au niveau de la muqueuse intestinale aucune trace de ces lésions si graves et si nombreuses qu'on y relève dans le choléra spontané de l'homme.

Ces constatations ne nous permettent assurément pas de conclure que le vibrion cholérique est la cause du choléra de l'homme.

Mêmes résultats négatifs ou tout à fait insuffisants chez le lapin, le chien, le chat, etc. Mais si, opérant sur le *spermophile,* petit rongeur de Russie méridionale, on ajoute à sa nourriture quelques gouttes d'une culture pure de vibrions cholériques, on constate qu'il meurt d'infection cholérique : on note la diarrhée et l'hypothermie ; à l'autopsie, l'intestin dilaté renferme un liquide dans lequel flottent des flocons blanchâtres et où les vibrions abondent.

On obtient encore des résultats positifs en expérimentant sur le *cobaye* ou le *lapin* âgés de quelques jours seulement (p. ex. des lapins

de 1 à 4 jours), auxquels on introduit dans la bouche un peu de culture cholérique : un choléra intestinal se développe.

Enfin, si on introduit dans l'estomac du cobaye (ou du lapin) adulte un peu de culture cholérique additionnée de carbonate de soude (pour neutraliser l'acide gastrique et protéger le vibrion contre son action bactéricide) ; si on injecte dans la cavité péritonéale soit un peu de teinture d'opium, soit de l'alcool à 40 °/₀ en quantité suffisante pour produire l'ivresse (2 gr. par 100 gr. de cobaye), on note les faits suivants : le cobaye sort de la torpeur, dans laquelle il était tombé, refroidi de plusieurs degrés et ne se réchauffe plus ; durant la survie, il a une diarrhée intense, dont la matière est liquide et tient en suspension de nombreux grumeaux ; il meurt en quelques jours (1 à 4). A l'autopsie se montrent les modifications cholériques de l'intestin et de son contenu.

Malgré les difficultés rencontrées, il a donc été possible d'établir que *le vibrion cholérique est la cause du choléra humain,* puisqu'il peut, chez des sujets convenablement choisis, ou dans des conditions spéciales, provoquer des troubles et des lésions anatomiques, qui sont assez exactement ceux du choléra humain.

Si, parmi les microbes-témoins des maladies de l'homme il en était quelqu'un avec lequel on ne fût pas parvenu à réaliser les symptômes et lésions de la maladie humaine correspondante, chez quelque animal tout au moins et au moins dans certaines circonstances ; si, par suite, on était réduit à la simple constatation de la présence constante du microbe dans l'organisme humain présentant une maladie cliniquement définie ; pourrait-on, au point où nous en sommes, et par analogie avec tout ce que nous avons reconnu, pourrait-on conclure que le microbe est la cause de la maladie ? Il faut ici distinguer. L'homme de laboratoire agira sagement en réservant sa conclusion jusqu'à ce que des faits positifs provoquent la décision, car il se pourrait que nous fussions en face d'une exception à la loi générale et que justement dans ce cas si l'inoculation expérimentale ne réussissait pas, le microbe-témoin fût la conséquence et non la cause du mal. Mais l'hygiéniste, le médecin, ceux qui doivent agir, soit pour préserver, soit pour guérir, et pour lesquels mieux vaut agir d'après des probabilités ou possibilités que ne point agir du tout,

adopteront cette conclusion qu'ici comme toujours le microbe-témoin est la cause de la maladie, se contentant de vérifier *a posteriori* cette conception par la constatation de l'exactitude des conséquences qu'il en ont tirées.

C'est là *l'histoire du bacille typhique.* Pendant longtemps, on n'a pas réussi à réaliser, en l'inoculant aux animaux l'équivalent de la fièvre typhoïde humaine, quel qu'ait été l'animal employé, quelle qu'ait été la voie d'introduction. On tuait l'animal en injectant de fortes doses de culture, mais ni les symptômes, ni les lésions n'étaient ceux d'une fièvre typhoïde : on notait bien des congestions de la rate et des viscères, comme on en note d'ailleurs dans tant d'infections, mais on ne retrouvait pas ces ulcérations de la muqueuse intestinale et notamment des plaques de Peyer si typiques dans la fièvre typhoïde.

Malgré ces insuccès expérimentaux, on considérait pourtant dans la pratique d'hygiène et de médecine le bacille typhique comme cause de la fièvre typhoïde et on agissait en conséquence : p. ex. on déclarait dangereuses les eaux qui contenaient le bacille typhique, bactériologiquement reconnu ; on soumettait ces eaux à la filtration pour les rendre inoffensives en éliminant le bacille ; on jugeait de la stérélisation des objets souillés de produits typhiques par la mort des bacilles qui y étaient contenus ; enfin on préparait à l'aide de ces bacilles des vaccins utilisés pour immuniser contre la fièvre typhoïde, comme on en préparait, et par des moyens équivalents, pour immuniser contre d'autres maladies microbiennes. Et comme toute cette pratique réalisait à peu près toutes les espérances fondées sur elle, on considérait que la conclusion adoptée par les hommes d'art (alors qu'elle demeurait réservée par les hommes de science) était justifiée par les conséquences qui en découlaient.

Parmi les microbes pathogènes, il en est qui provoquent des maladies ayant de frappantes analogies entre elles, et qu'on peut dès lors considérer comme formant une *famille naturelle patho-bactériologique.* Tantôt les maladies produites sont marquées de quelques dissemblances cliniques, qu'il est, sinon très faciles, au moins possible de reconnaître en dehors de toute analyse bactériologique ; tantôt ces maladies sont assez semblables cliniquement pour que seul l'examen bactériologique permette de les séparer.

Précisons cette importante notion par quelques exemples. Le *streptocoque pyogène,* avons-nous dit, engendre des maladies cliniquement

diverses, que nous avons réunies sous le nom générique de streptococcies, quand renonçant au langage clinique, nous parlions bactériologie, que nous avions au contraire distinguées quand nous redevenions cliniciens, abcès, phlegmons, ostéomyélites, infections puerpérales, etc. Or on peut reconnaître dans le pus des furoncles, de l'anthrax, des abcès, des phlegmons, des ostéomyélites, etc., sinon toujours, au moins souvent la présence d'un microbe qui, bactériologiquement diffère du streptocoque et qu'on appelle le *staphylocoque pyogène* (on en connaît trois variétés principales).

Les *staphylocoques* sont de petits grains arrondis, de 0 μ 7 à 1 μ de diamètre, groupés en amas irréguliers, comme les grains d'une grappe de raisin. Ils se distinguent des streptocoques non seulement par cette disposition en amas, mais encore par les dissemblances de colorabilité, de culture, etc.

Or il est impossible au clinicien même très expérimenté de distinguer une *suppuration streptococcique* d'une *suppuration staphylococcique*; le bactériologiste seul le peut faire sûrement. Et il importe de le faire, car nous possédons des médications spécifiques permettant d'engager la lutte avec quelque chance de réussite et qu'il faut employer à bon escient, c'est-à-dire en réservant la médication streptococcique au streptocoque et à lui seul, et en réservant la médication staphylococcique aux accidents produits par les staphylocoques. Le diagnostic différentiel bactériologique s'impose; le diagnostic différentiel clinique faisant défaut.

En voici un second exemple. Le microbe témoin de la fièvre typhoïde est le *bacille typhique* ou *bacille d'Eberth*, et les techniciens nous ont appris à le caractériser comme espèce définie. Or il existe une maladie de l'homme qu'on a longtemps confondue avec la fièvre typhoïde et qu'on en sépare maintenant sous le nom de *paratyphus*, cette maladie représentant exactement, comme symptômes et lésions, une fièvre typhoïde légère. Sans doute, les cliniciens minutieux ont fourni des données permettant de distinguer le paratyphus et la fièvre typhoïde (différences dans le début de la maladie, caractère des selles, courbe thermique, éruption roséolique, etc.), mais la différenciation est souvent assez délicate pour que le médecin hésite à se prononcer. Le microbe qui la détermine est distinct du bacille typhique : il suffira, sans entrer dans d'autres précisions, de dire que tout au contraire du bacille typhique, qui n'est pas pathogène dans les conditions courantes d'inoculation pour le cobaye et la souris, le *bacille paratyphique* est extrêmement pathogène pour ces deux espèces. Le bacille paratyphique forme avec le bacille typhique une famille patho-bactériologique.

Notons enfin, sans y insister, qu'on a décrit plusieurs variétés, sinon plusieurs espèces, de vibrions cholériques, aptes à engendrer

une maladie qui cliniquement est le choléra ; — plusieurs variétés de streptocoques cliniquement équivalents au streptocoque pyogène, etc.

Ces faits nous amènent à rapprocher encore une fois les microbes pathogènes et les microbes agents des fermentations. Dans les deux groupes, nous trouvons, d'une part, des espèces rigoureusement spécifiques, c'est-à-dire dont la présence est absolument nécessaire pour déterminer une maladie cliniquement définie, ou une fermentation chimiquement définie, et, d'autre part, des espèces qui peuvent être remplacées par des espèces ou variétés voisines, sans que la maladie soit radicalement différente ou la fermentation totalement dissemblable.

Nous ne connaissons qu'un seul ferment acétique, un seul ferment butyrique ; mais il y a plusieurs espèces de levures capables de provoquer la fermentation alcoolique ; il y a plusieurs ferments lactiques, plusieurs ferments ammoniacaux. De même, nous ne connaissons qu'un seul microbe tétanique, un seul microbe blennorragique ; mais il y a plusieurs microbes capables de provoquer des suppurations et des septicémies ; il y a plusieurs microbes engendrant le choléra, etc.

Un microbe pathogène suffit à produire une maladie ; mais en maintes circonstances, plusieurs microbes pathogènes sont présents et agissants. Dans ces cas-là, on parle de *maladies microbiennes mixtes*.

Nous avons signalé des suppurations diverses produites soit par le staphylocoque soit par le streptocoque ; il en est (et c'est fréquent) où l'on trouve dans les tissus enflammés et qui vont suppurer les deux microbes associés. L'examen bactériologique seul permet de distinguer les *streptococcies pures*, les *staphylococcies pures* et les *streptostaphylococcies mixtes*.

La fièvre typhoïde est produite par le bacille typhique, mais il est des fièvres typhoïdes (et le cas est fréquent) dans lesquelles d'autres microbes interviennent à côté de lui, donnant au tableau clinique un caractère plus ou moins spécial, assez spécial souvent pour que le médecin n'ait pas trop de peine à distinguer une fièvre typhoïde pure et une fièvre typhoïde mixte. Ainsi, sans citer d'autres microbes que ceux que nous connaissons, il y a des fièvres typhoïdes dans lesquelles *le streptocoque pyogène est associé au bacille typhique* : cliniquement,

ces maladies présentent des accidents complémentaires, suppurations, érysipèles, angines, otites, etc. Il y a des fièvres typhoïdes avec association de staphylocoques, etc.

Ces mêmes microbes pathogènes, *streptocoques et staphylocoques*, ainsi que quelques autres se trouvent assez souvent dans les fausses membranes diphtériques *associés au bacille diphtérique*. A la diphtérie pure, correspondant au seul bacille diphtérique, se substitue dans ces cas une *strepto-diphtérie*, une *staphylo-diphtérie*, etc., présentant des caractères cliniques complémentaires qui permettent généralement de soupçonner, sinon d'affirmer la présence d'un microbe adjoint.

On distingue parfois les *infections mixtes*, dans lesquelles les microbes sont inoculés simultanément ou envahissent simultanément l'organisme, et les *infections secondaires*, dans lesquelles l'un des microbes envahit un organisme dans lequel un premier microbe pathogène a déjà développé ses effets.

Nous n'avons pas signalé dans les pages précédentes tous les microbes pathogènes de l'homme et *a fortiori* des animaux domestiques, parce que nous ne nous proposions pas de faire un inventaire complet de la flore bactérienne pathologique ; nous avons cherché à faire une démonstration, à savoir que dans maintes maladies infectieuses, on peut découvrir, isoler, cultiver un microbe qui en est le témoin bactériologique, à savoir aussi que ce témoin est, à vrai dire, la cause de la maladie.

Il suffira de présenter sous leur nom et avec leurs qualités essentielles les principaux personnages du monde bactériologique, que le médecin a quelque chance de rencontrer sur son chemin.

Nous connaissons déjà la *bactéridie charbonneuse*, le *bacille diphtérique* (ou bacille de Klebs-Löffler), le *bacille du tétanos* (ou bacille de Nicolaïer), le *gonocoque* (de Neisser), le *bacille ou coccobacille pesteux*, le *vibrion cholérique*, le *bacille typhique* (ou bacille d'Eberth) ; nous avons aperçu le *streptocoque pyogène* et le *staphylocoque pyogène*, le *bacille tuberculeux* (ou bacille de Koch).

En voici quelques autres qu'il suffira de signaler sommairement.

Le *pneumocoque*, qui se présente sous forme de diplocoque, constitué par deux éléments allongés, ayant chacun la forme d'une

lancette ou d'une flamme de bougie, agent de nombreuses maladies, cliniquement distinctes selon la localisation du microbe, dont l'ensemble représente les pneumococcies, et parmi lesquelles il faut citer les pneumonies lobaires, puis des otites, des méningites, des endocardites et péricardites, etc. On le trouve souvent remplissant le rôle de microbe adjoint, associé en particulier au bacille typhique, au bacille diphtérique, etc.

Le *méningocoque,* qui se présente sous la forme de diplocoque en général, dont les éléments sont aplatis sur la face de contact; c'est l'agent de la méningite cérébro-spinale épidémique.

Le *vibrion septique* abondamment présent dans la terre végétale et dont l'inoculation accidentelle chez l'homme détermine la production d'un œdème inflammatoire rapidement envahissant, et d'une septicémie rapidement mortelle.

Le *bacille de l'influenza,* l'un des plus petits bacilles observés ne mesurant pas plus de 0,2 à 0 μ 5 de largeur sur 1 à 2 μ de longueur.

Le *bacille pyocyanique* ou *bacille du pus bleu,* qu'on trouve sous forme de courts bâtonnets de 1 à 1 μ 1/2 de longueur sur 0,5 à 0 μ 6 de largeur dans le pus de coloration bleutée, qui se forme parfois au niveau de certaines plaies. Il est, comme le streptocoque et le staphylocoque, microbe pyogène, et, comme eux aussi, capable d'engendrer une septicémie, la maladie pyocyanique.

Le *spirochète pâle* ou *spirochète de Schaudinn,* constitué par un très long et très grêle filament (6 à 15 μ sur 1/4 μ), spiralé, présentant de nombreuses spires (10 à 20 tours), terminé en pointes allongées, prolongées par un ou deux cils, animés de mouvements onduleux rapides. On le trouve dans le suc de toutes les lésions syphilitiques, chancre dur, plaques muqueuses, gommes tertiaires, tissus du sujet frappé de syphilis héréditaire.

Nommons au moins le *bacille de la morve,* le *bacille de la lèpre,* le *spirille de la fièvre récurrente,* le *bacille de la dysenterie épidémique,* etc.

Il serait inadmissible de terminer cette présentation, en laissant complètement de côté le *bacterium coli commune* ou *coli-bacille,* ou *bacille d'Escherich,* ou plus exactement les diverses espèces ou variété microbiennes qu'on groupe sous cette dénomination commune. C'est un bacille de 2 à 3 μ de longueur sur 0,4 à 0 μ 6 de largeur, présentant de nombreuses et frappantes ressemblances avec le bacille typhique, si nombreuses même et si frappantes que la différenciation de ces deux espèces est délicate. Il se trouve constamment dans le tube digestif de l'homme, et dans toute son étendue, depuis les premières heures suivant la naissance jusqu'à la mort, et, parmi les nombreux microbes qui s'y trouvent, il est de beaucoup le plus abon-

dant. En général, il n'est pas pathogène : il vit dans l'intestin en saprophyte, c'est-à-dire en microbe transformateur chimique, ou en agent de putréfaction ; sous l'influence de conditions diverses, dont quelques-unes seulement sont connues, il devient pathogène et produit, en envahissant divers organes, des troubles pathologiques plus ou moins graves, selon la localisation, et d'ailleurs aussi variés que les organes qu'il peut atteindre.

Un certain nombre de microbes, parmi ceux déjà cités sont normalement présents en quelque cavité de l'organisme sans y révéler leur présence par quelque fait pathologique; mais ils engendrent des maladies quand certaines circonstances se présentent : le pneumocoque, le bacille diphtérique, par exemple, se rencontrent souvent dans la salive de sujets sains.

Une maladie microbienne est causée par un microbe spécifique, mais à la condition expresse que *certaines conditions soient réalisées.* Sans le microbe, la maladie n'apparaît pas, mais, avec le microbe, elle n'apparaît pas davantage, si les conditions nécessaires ne sont pas remplies : cette remarque a une importance médicale considérable. Pour lutter contre les maladies microbiennes, le médecin et l'hygiéniste peuvent s'attaquer au microbe et s'efforcer de le supprimer; mais la tactique est parfois difficile, parfois pratiquement irréalisable. Le médecin et l'hygiéniste cherchent alors à écarter les conditions dans lesquelles le microbe peut agir, et s'ils y parviennent, ils ont atteint leur but, qui est moins de détruire le microbe que de le rendre inoffensif.

— Il est *des maladies contagieuses présentant avec les maladies microbiennes des ressemblances* si manifestes qu'on ne saurait les rapporter à quelque cause de nature tout à fait différente, mais *pour lesquelles on n'a pas pu jusqu'ici observer le microbe cause de la maladie,* telles sont la *rougeole,* la *scarlatine,* la *variole,* etc.

On admet que le microbe-cause existe, mais on imagine qu'il est assez petit pour échapper à la recherche microscopique, et cette hypothèse (c'est une hypothèse, non une vérité scientifique) est appuyée par les faits mis en lumière dans l'étude de la *péripneumonie des bovidés.*

C'est une maladie contagieuse, dans laquelle on observe une infiltration séreuse du tissu pulmonaire et un épanchement pleural séro-fibrineux. L'examen microscopique de cette sérosité fait à l'aide des plus forts grossissements y révèle la présence de minuscules granulations colorables par les réactifs histologiques, assez difficilement du reste. Ces granulations ne se multiplient pas dans la plupart des milieux de culture employés en bactériologie, mais on peut les cultiver sur certains milieux spéciaux. Or, *ces granulations traversent les filtres en porcelaine dégourdie*, au moins quand on a assez fortement dilué le liquide séreux qui les contient.

Si donc des produits pathologiques correspondant à une maladie contagieuse à allures microbiennes ne contiennent pas de microbes visibles au microscope, si ces produits peuvent être filtrés sur porcelaine sans perdre la propriété qu'ils avaient de communiquer la maladie aux animaux auxquels on les inocule, on ne peut pas être accusé de tenir des propos absurdes quand on émet l'hypothèse que ces produits contiennent sans doute des microbes assez petits pour échapper à la recherche microscopique et pour se jouer de l'obstacle que les filtres opposent au passage des éléments en suspension (d'où la dénomination de *microbes filtrables*). Le microbe de la péripneumonie ne fait-il pas le passage entre les microbes visibles, mesurables et non-filtrables et *ces infiniment petits parmi les infiniment petits*, que nous n'apercevons pas ?

La plupart des microbes pathogènes se cultivent bien sur les milieux d'usage courant en bactériologie ; *les microbes filtrables ne s'y cultivent pas*, et *on ne connaît pas de milieu leur convenant*. Notons qu'ici encore le microbe de la péripneumonie fait passage des microbes non-filtrables aux microbes filtrables ; comme les premiers, il est cultivable, mais seulement sur un milieu très spécial empiriquement découvert ; comme les seconds, il ne pousse pas sur les milieux courants. L'étude des microbes filtrables ne saurait guère progresser avant qu'on ait appris à les cultiver in vitro.

Ces dernières observations sont intéressantes, en ce qu'elles nous permettent d'écarter un scrupule qui eût pu nous venir. Nous avons admis que le microbe pesteux, p. ex., est cause de la peste, parce qu'en nos cultures pures nous ne constations pas la présence d'un autre microbe, et que nous avions éliminé tout ce qui n'est pas vivant en multipliant les ensemencements. Mais nous avons raisonné là comme si tout microbe était visible : ne pourrait-on se demander si, à côté du microbe pesteux témoin visible de la peste, il n'existe pas dans la culture un microbe invisible cause de la peste ? Une telle hypothèse ne saurait être maintenue, en raison justement de ce que les microbes invisibles ne se cultivent pas sur les milieux ordinairement employés.

Une remarque encore. Nous avons dit pourquoi nous étions amenés à admettre l'existence de microbes filtrants, invisibles : c'est une hypothèse qui n'est pas absurde, mais ce n'est pourtant qu'une hypothèse et non une vérité scientifique. Si quelque jour, on parvient à cultiver quelqu'un de ces *hypothétiques microbes* et à montrer sinon le microbe lui-même au moins ses colonies, nous n'en éprouverons aucune surprise ; mais jusque-là demeurons prudents et ne leur accordons pas encore droit de cité en microbiologie. N'oublions pas surtout que, pour être autorisé à considérer un microbe donné comme cause d'une maladie, il faut, par inoculation de sa culture pure, réaliser une maladie présentant les troubles et les lésions caractéristiques.

— Il existe, outre les microbes, des *parasites microscopiques* comme les microbes, mais généralement plus volumineux que les microbes, et qui sont les témoins de quelques maladies contagieuses de l'homme et des animaux, appartenant au groupe des *protozoaires*.

Chez les protozoaires, on a distingué au microscope, en s'aidant de colorations au besoin, un protoplasma, un noyau, parfois des vacuoles et autres dispositions spéciales, souvent des appareils de locomotion représentés par des cils ou des flagelles ; on a suivi les phénomènes de leur multiplication et noté, chez plusieurs d'entre eux, à côté d'une reproduction par division, une reproduction sexuée, et, au moins pour certaines espèces des générations alternantes. Pour ces parasites, les études morphologiques ont été fort développées, alors qu'elles sont rudimentaires pour les microbes proprement dits.

Pour quelques protozoaires parasites, il y a encore à noter le passage successif dans deux hôtes distincts, dont l'un est généralement un insecte, ces passages étant nécessaires au parasite pour accomplir les phases successives de son évolution, celle-ci ne se passant que chez l'insecte, celle-là que chez le vertébré. Ici, l'étude épidémiologique comprend la recherche de l'insecte hôte de passage, et la détermination des causes et conditions du passage ; elle a donc une tout autre orientation que l'étude correspondante pour les microbes proprement dits.

Or, si nos connaissances bactériologiques sont considérablement développées, si nous savons que certains microbes témoins sont causes de maladies, si nous pouvons vacciner en modifiant les qualités pathogènes des microbes et guérir en leur opposant des agents efficaces, c'est qu'il a été possible d'extraire, d'isoler, de cultiver ces microbes hors de l'organisme, en variant les conditions de leur vie. Mais *nous n'avons pas réussi à cultiver les protozoaires in vitro* ; nous les connaissons beaucoup moins bien que les microbes, au point de vue biologique, et nos moyens d'action sur eux sont nuls ou tout au moins fort restreints.

Il suffira de nommer les principaux protozoaires parasites de l'homme, témoins et sans doute causes (la démonstration rigoureuse n'est pas réalisable actuellement en raison de l'échec des tentatives de culture in vitro) de maladies.

C'est d'abord la *dysentérie amibienne* dont le parasite est une amibe (tantôt *Amœba histolytica*, tantôt *Amœba africana*) qu'on trouve localisée surtout dans les cellules de la muqueuse intestinale. C'est ensuite la *maladie du sommeil*, dont le parasite est un *trypanosome* (*Trypanosoma gambiense*) qu'on trouve dans le liquide céphalo-rachidien et dans le sang des malades, et qui est transmis à l'homme par l'insecte *Glossina palpalis*. C'est enfin le *paludisme*, dont le parasite est l'*hématozoaire de Laveran*. (*Hemamœba malariæ*), éminemment polymorphe, qu'on trouve dans les hématies des paludéens, et qui est transmis par les *moustiques* du genre *anophèle*.

Peut-être conviendrait-il de rapprocher des protozoaires parasites plus que des microbes pathogènes, les *spirochètes*, et notamment le *spirochète pâle*, agent de la *syphilis*. Leur organisation nous est inconnue sans doute à cause de leurs minuscules dimensions, mais elles ont ceci de commun avec les protozoaires que jusqu'ici nous n'avons pas appris à les cultiver et à les modifier comme nous savons cultiver et modifier les microbes.

CHAPITRE VI

LES TOXINES MICROBIENNES

SOMMAIRE. — De la nécessité logique d'une substance toxique diffusible engendrée par les bacilles tétanique et diphtérique. — Rappel de faits observés dans l'étude des fermentations. — De la toxine tétanique : définition, obtention, inoculation ; identité des accidents produits par l'injection d'une culture totale et des accidents produits par l'injection d'une culture filtrée de bacille tétanique. — Réponse à une objection. — Le tétanos est une intoxication pure. — Variabilité de la toxicité des filtrats tétaniques. — Tentatives de préparation de la toxine ; propriétés de la toxine. — Parallèle de la toxine tétanique et des diastases ; prodigieuse activité de la toxine. — Distinction des diastases et de la toxine, et justification de cette distinction. — La toxine tétanique chez l'homme dans le cas de tétanos non-expérimental. — Répartition de la toxine dans l'organisme ; fixation de la toxine par les éléments nerveux. — Digression : bacille tétanique et microbes associés. — De la toxine diphtérique ; obtention, inoculation ; manifestations toxiques. — Variations de la toxicité diphtérique. — Propriétés de la toxine diphtérique ; du phosphate de chaux chargé de toxine et des accidents qu'il produit. — La toxine diphtérique manifestée dans l'organisme des sujets atteints de diphtérie. — De la toxine produite par le microbe de Shiga-Kruse ou toxine dysentérique. — De la toxine du botulisme et d'une remarquable propriété de cette toxine. — De quelques autres toxines ne représentant que partiellement le microbe pathogène au point de vue des accidents engendrés. — Toxine du microbe du choléra des poules. — Hématolyse produite par le streptocoque. — Des cultures sans toxine. — Des toxines non diffusibles ou endotoxines. — Les toxines du bacille pesteux, du vibrion cholérique, du bacille typhique et du bacille paratyphique, du bacille tuberculeux et du bacille de la morve. — Intoxications microbiennes et infections microbiennes.

Dans les tissus des plaies tétanigènes, on trouve toujours un microbe anaérobie, le *bacille tétanique*, témoin et cause du tétanos. A l'autopsie d'un tétanique, par contre, on ne trouve jamais, en aucune région du corps

autre que la plaie tétanigène, un microbe répondant au signalement du bacille tétanique et capable de produire des accidents tétaniques chez un animal auquel on l'injecterait.

Si on inocule expérimentalement une culture pure de bacilles tétaniques sous la peau ou dans les muscles d'un animal (souris, lapin, cobaye, etc.), on voit, après quelque temps, des accidents tétaniques très analogues à ceux décrits chez l'homme par les médecins, apparaître, se développer, évoluer et conduire l'animal à la mort. Or, dans le cadavre de l'animal ainsi mort tétanique, on ne trouve le bacille spécifique ni dans le sang, ni dans la moelle, ni dans aucun tissu, si ce n'est au point d'inoculation, et encore faut-il noter qu'en ce point les bacilles se sont singulièrement raréfiés depuis l'inoculation.

Les accidents tétaniques sont la manifestation d'une exaltation considérable du pouvoir excito-réflexe de la moelle, ainsi que l'établit l'analyse physiologique (les spasmes et contractures tétaniques n'existent en effet qu'autant que les muscles qui les présentent sont unis par leurs nerfs moteurs avec le système nerveux central). Comme le bacille tétanique n'a pas envahi les centres nerveux à quelque moment que ce soit de l'infection, on est amené à se demander si quelque substance toxique fabriquée par le bacille n'a pas diffusé dans l'organisme, et, conduite par le sang circulant ou de quelque autre manière, n'est pas venue impressionner le système nerveux central.

Dans les fausses membranes diphtériques s'observe toujours un microbe, le *bacille diphtérique*, témoin et cause de la diphtérie. On peut le trouver aussi, chez le diphtérique, dans la bouche, dans le tube digestif, dans les voies respiratoires ; mais on ne le rencontre dans la profondeur d'aucun tissu, c'est dire qu'il demeure à proprement parler hors de l'organisme, végétant à la surface des muqueuses, — Si on inocule ce bacille en culture pure, en quelque région de l'économie, il ne se dissémine pas, ne produit pas de septicémie, n'engendre pas de colonies lointaines ; il demeure rigoureusement fixé au point d'inoculation. Or la diphtérie est une maladie générale, comportant des troubles cardiaques et vasculaires, des altérations rénales et parfois, si l'animal survit, des paralysies. En vérité, beau-

coup de systèmes physiologiques participent à la maladie et que n'a pas envahis le bacille. La question, que nous avons posée tout à l'heure peut être de nouveau formulée : les accidents diphtériques, dérivant de la présence de bacilles diphtériques dans de fausses membranes pharyngées, ne sont-ils pas la conséquence de l'action exercée sur divers tissus et organes par quelque substance toxique produite par le bacille et diffusant dans l'organisme.

Nous avons reconnu, en étudiant les fermentations que parfois le ferment déverse dans le milieu des *diastases, agents de transformations chimiques,* capables d'accomplir ces transformations en dehors de la présence du ferment qui les a sécrétées : nous avons noté l'existence de l'invertine de levure, de la diastase amylolytique du ferment lactique, de l'uréase des ferments ammoniacaux.

Une idée s'impose : les bactéries pathogènes, ou au moins certaines d'entre elles (par exemple, les bacilles tétanique et diphtérique) ne sécrètent-elles pas, pour la verser dans le milieu, *quelque substance,* qui serait aux diastases, ce que les microbes pathogènes sont aux ferments, c'est-à-dire *capable de produire des accidents pathologiques, comme les diastases produisent des transformations chimiques?* Nous allons soumettre cette idée au contrôle expérimental; et, pour cela, nous allons choisir comme exemples le cas du *tétanos* et celui de la *diphtérie.*

Les microbes pathogènes se développant fort bien en des milieux de culture artificiels, et leur étude in vitro étant plus facile à faire que leur étude in vivo, nous chercherons d'abord à connaître la nature, les propriétés chimiques et toxicologiques de leurs *produits de sécrétion* dans les milieux de culture où ils ont végété, nous appliquant ensuite à établir que les choses se passent de même quand les microbes vivent en parasites dans l'organisme de l'homme ou d'un animal d'expérience.

Disposant d'une culture pure de bacille tétanique, nous ensemençons sur bouillon peptoné et glycosé, et laissons la culture se faire dans le vide ou en présence d'un gaz inerte (azote, hydrogène, etc.) à 38°. Au bout de 10 jours au moins, nous filtrons sur porcelaine dégourdie, et obtenons une liqueur sans microbes, qu'on désigne parfois sous

le nom de *toxine tétanique*, mais qu'il faudrait mieux appeler *liqueur tétanotoxique*, réservant l'expression toxine tétanique pour désigner le principe ou les principes toxiques qu'elle contient.

Si on injecte en petite quantité cette liqueur tétanotoxique sous la peau, dans le péritoine ou dans les muscles de la souris, du lapin, du cobaye, etc., on détermine un tétanos rapidement mortel. La toxicité de cette liqueur peut être telle qu'en 3 jours 1/1000 c. c. tue un cobaye et 0 c. c. 000005 une souris. Les accidents engendrés sont rigoureusement superposables à ceux qu'on provoque en inoculant la culture totale, liqueur et microbes.

Dans les deux cas (qu'on ait injecté le liquide tétanigène seul, ou la culture totale), les accidents apparaissent après une période d'incubation plus ou moins longue suivant la dose injectée, et suivant le lieu d'injection (de 24 heures à 5 jours pour les inoculations sous-cutanées ; — de 3 à 4 heures seulement pour les inoculations intracérébrales) ; dans les deux cas, les contractures apparaissent d'abord dans les muscles voisins du point d'inoculation, pour se propager de proche en proche à l'entière musculature ; dans les deux cas, on ne note, à l'autopsie, qu'une très légère infiltration œdémateuse au point d'injection.

Ne convient-il pas de conclure que les accidents tétaniques provoqués par le bacille tétanique sont la conséquence de l'action exercée par la toxine ou par les toxines fabriquées par le microbe et déversées dans le milieu (bouillon de culture ou organisme) dans lequel il végète? On a d'ailleurs démontré que, *dans le tétanos, le bacille n'intervient que comme générateur de toxine.*

Supposons qu'on ait inoculé sous la peau du cobaye une culture tétanique totale ; on constate à l'autopsie qu'il ne reste au point d'injection que de très rares bacilles, si rares que l'examen microscopique de la sérosité ne permet pas toujours de les reconnaître (il faut introduire en un bouillon une parcelle du tissu prélevé dans la zone d'inoculation pour constater la multiplication des bacilles) ; et, comme on n'en trouve pas dans le reste du corps, on ne saurait parler d'infection.

Supposons que nous ensemencions en un bouillon une très minuscule quantité (pour ne pas y introduire de toxine préformée)

d'une culture tétanique, et que nous l'y laissions se développer 48 h. (elle ne contient pas de toxine, car le liquide filtré injecté à la souris ne la rend pas tétanique). L'inoculation de cette culture totale, très riche en bacille faite chez les animaux les plus sensibles au tétanos, et p. ex. chez la souris, n'engendre aucune des manifestations tétaniques.

Le *tétanos expérimental est donc purement et simplement une intoxication* produite par la toxine tétanique contenue dans les milieux où a longuement séjourné la bacille tétanique.

Le mode d'inoculation sous-cutanée ou intramusculaire d'une part, intraveineuse d'autre part, n'a pas une importance capitale; la seule différence à signaler c'est que, dans le premier cas, le tétanos est d'abord local, puis se généralise de proche en proche, et que, dans le second, il est général d'emblée.

La toxicité des cultures tétaniques est éminemment variable : elle dépend de la race microbienne, de la nature du milieu dans lequel on l'a cultivé, des conditions de la culture et de sa durée ; elle dépend aussi de l'espèce à laquelle appartient l'animal d'expérience.

P. ex., la toxicité est plus grande, toutes autres conditions égales, si on cultive le bacille sur sérum sanguin frais, au lieu de le cultiver sur bouillon. Elle est plus grande si la culture est vieille de 20 jours ; elle est minime pour les cultures de 5 à 6 jours, nulle pour les cultures de 48 h. On peut renforcer la toxicité en pratiquant à longs intervalles des cultures successives sur un même milieu : faisons une première culture sur bouillon peptoné glycosé, et, après 20 jours, filtrons sur porcelaine ; ensemençons dans ce liquide filtré des bacilles tétaniques, et, au bout de 15 jours, filtrons de nouveau sur porcelaine ; ajoutons au liquide filtré un peu (1/10) de bouillon neuf, ensemençons encore une fois, et filtrons au bout de 15 jours. De ces trois filtrats, il faut employer pour tuer un cobaye soit 1/150 c.c. s'il s'agit du premier, soit 1/500 c.c. s'il s'agit du second, soit 1/1000 s'il s'agit du dernier.

Supposons que nous possédions une liqueur tétanotoxique filtrée ; il suffira p. ex. d'en injecter 0 c.c. 000 005 pour tuer une souris de 15 gr. (0 c.c. 000 000 33 pour 1 gr. de souris). Avec 1/10 de cette quantité on tuerait 1 gr. de cheval, et avec 1/6 on tuerait 1 gr. de cobaye ; mais il en faudrait 150 fois plus pour tuer 1 gr. de lapin

et 30 000 fois autant pour tuer 1 gr. de poule. Ce qui nous amène à énoncer cette importante remarque : *dans toute question d'intoxication, il y a toujours deux éléments à considérer, la substance toxique et l'être intoxiqué.*

Nous avons jusqu'ici expérimenté avec les bouillons de culture filtrés, c'est-à-dire avec des mélanges extrêmement complexes. Or on a tenté de *séparer la ou les toxines* des impuretés qui les accompagnent.

Les chimistes qui s'y sont essayé jadis ont retiré de ces milieux tétaniques des substances chimiquement caractérisables, dont ils ont préparé des combinaisons cristallisées, dont ils ont déterminé la composition centésimale et le poids moléculaire, *tétanine, tétanotoxine, spasmotoxine,* etc. Ces substances sont capables, sans doute, de provoquer des accidents chez les animaux auxquels on les inocule, mais ces accidents ne sont pas ceux si caractéristiques que détermine l'injection de la culture filtrée. La véritable toxine n'est pas, comme ces substances, une ptomaïne ; à vrai dire, nous ignorons totalement ce qu'elle est. Mais de même qu'on étudie certaines propriétés des diastases sans les avoir isolées, de même reconnaîtrons-nous certaines propriétés des toxines (de la toxine tétanique tout d'abord) sans les séparer du liquide qui les renferme.

La *toxine tétanique* est détruite par la chaleur à la température de 100° et même à toute température supérieure à 65°. Elle est insoluble dans l'alcool et précipitée par l'alcool des liqueurs tétanotoxiques ; elle est entraînée par les précipités floconneux, notamment par le précipité de phosphate de chaux. Elle est très faiblement dialysable.

Si on chauffe la liqueur tétanotoxique pendant quelques min. à 100° ou pendant 1/2 h. à 65°, on supprime sa toxicité ; on en peut alors injecter plusieurs c.c. au cobaye sans provoquer la mort, alors qu'il ne résiste pas à l'injection de 1/100 c.c. de liquide non chauffé. Si on avait chauffé la liqueur 1/2 h. à 60°, on eût diminué sa toxicité sans la supprimer totalement.

Par contre, si on dessèche dans le vide, au-dessus d'acide sulfurique, la liqueur tétanotoxique, on obtient un résidu brunâtre qu'on peut chauffer 1/2 h. à 100° et même au delà, sans détruire la toxine qu'il contient : car le résidu ainsi chauffé, dissous dans l'eau, fournit une liqueur tétanigène.

Ce même résidu d'évaporation dans le vide traité par l'alcool fort (à 90 °/o p. ex.) ne lui abandonne pas sa toxine, car l'extrait alcoolique injecté aux animaux même les plus sensibles ne les rend pas tétaniques.

Si on ajoute à la liqueur tétanotoxique de l'alcool jusqu'à ce que le mélange en renferme de 80 à 90 °/o, il se produit un précipité englobant la toxine, car ce précipité desséché à basse température, puis repris par l'eau, fournit une liqueur tétanigène.

Si à la liqueur tétanotoxique on ajoute 1 °/o de phosphate trisodique, puis 1 °/o de chlorure de calcium, il se fait un précipité de phosphate tricalcique, dont les flocons se déposent. Le liquide décanté est encore tétanigène, mais beaucoup moins à volume égal que la primitive liqueur. Quant aux flocons de phosphate de chaux, longuement lavés pour les débarrasser complètement de toute trace de la liqueur dans laquelle ils se sont formés, ils peuvent, quand on les insère sous la peau ou dans les muscles du cobaye ou de la souris, produire un tétanos mortel.

La liqueur tétanotoxique étant introduite en un dialyseur de papier parchemin, laisse passer dans l'eau distillée dans laquelle on l'a immergé, une très petite quantité de toxine et très lentement. Si, en effet, après plusieurs jours de dialyse, on prélève du liquide extérieur au dialyseur, pour l'injecter en grande quantité au cobaye ou à la souris, on peut déterminer le tétanos ; mais les quantités nécessaires pour y réussir sont incomparablement plus grandes que les quantités suffisantes du liquide contenu dans le dialyseur.

Nous ne pouvons pas ne pas *rapprocher la toxine tétanique des diastases* : l'une et les autres se comportent de semblable façon quand elles sont soumises aux mêmes agents ou aux mêmes influences. Toxine et diastases sont détruites à l'ébullition ; toxine et diastases sont solubles dans l'eau, insolubles dans l'alcool, précipitées par l'alcool fort de leur solution aqueuse, précipitées mais non détruites ; toxine et diastases sont très faiblement dialysables.

Les différences entre la toxine tétanique et les diastases ne portent que sur des nuances : la toxine s'altère assez vite à 40°, se détruit rapidement à la lumière et ne résiste pas à un contact prolongé avec l'alcool fort, tandis que l'invertine et en général les diastases résistent beaucoup mieux aux mêmes influences. Mais ce ne sont là que des détails, dont il serait absurde d'exagérer la minuscule mportance.

Si nous ajoutons que nous ne connaissons pas plus la *nature de la toxine tétanique,* que nous n'avons jamais pu isoler et préparer pure, que la nature des diastases que nous n'avons obtenues que mélangées à des impuretés ; si nous ajoutons que nous ne connaissons la toxine, comme nous ne connaissons les diastases, que par leurs actions, actions pathologiques pour la première, actions chimiques pour les secondes, — nous sommes amenés à rapprocher intimement toxine et diastases, et, pour bien marquer ce rapprochement, à énoncer des propositions telles que celles-ci : *les toxines sont les diastases de la pathologie microbienne, comme les diastases sont les toxines de la chimie,* ou encore et tout simplement : *les toxines sont des diastases.*

Et pour appuyer cette conclusion (que des esprits simplistes, comme il y en a tant, trouvent pleinement satisfaisante, pour ne pas dire enthousiasmante), nous pourrions encore faire un rapprochement entre toxine et diastases. Les diastases en quantité infiniment petite sont capables de produire des transformations chimiques, pondéralement infiniment grandes. Or *les toxines peuvent, en quantité infiniment petite, produire des accidents infiniment graves,* et faire passer de vie à trépas un poids infiniment grand de matière vivante, c'est-à-dire imposer une transformation biologique à une masse de matière vivante infiniment grande par rapport à la leur.

Voici, p. ex. une liqueur tétanotoxique, qui tue à la dose de 1/800 c.c. un cobaye de 400 gr. en 2 jours 1/2. Or 1 c.c. de cette liqueur laisse un résidu sec de 0 gr. 040, dans lequel il n'y a pas plus de 0 gr. 025 de matière organique. Admettons que cette matière organique soit de la toxine (ce qui est manifestement très exagéré) ; il suffirait donc de $0 \text{ gr. } 025 \times \frac{1}{800}$ ou 0 gr. 000 031 pour tuer 400 gr. de cobaye ou $0{,}000\,031 \times \frac{1}{400}$ soit 0 gr. 000 000 08 pour tuer 1 gr. de cobaye. Le rapport des poids de substance active et de substance tuée est donc comme le rapport des nombres 0,000 000 08 et 1 soit environ 1/12 000 000. Si l'on opérait sur le cheval, au lieu d'opérer sur la souris, on trouverait pour ce même rapport la valeur 1/500 000 000. On est donc autorisé à opposer l'infinie petitesse

de la quantité de toxine à l'infinie grandeur de la quantité de substance vivante qu'elle peut tuer.

Et pourtant, nous nous garderons bien de faire de la toxine tétanique une diastase, et voici pourquoi.

Les diastases sont des agents de transformations chimiques. Je ne sache pas qu'on ait démontré que la toxine soit un agent de transformation chimique. Il est possible qu'elle le soit; mais énoncer une telle proposition présentement c'est énoncer une hypothèse, non une vérité scientifique.

Les diastases ne se détruisent pas en agissant ; on les retrouve identiques à elles-mêmes qualitativement et quantitativement dans les milieux où elles ont agi : on l'a démontré, sinon dans tous les cas, au moins dans un certain nombre de cas, pour lesquels la démonstration ne se heurte pas à des obstacles insurmontables; sinon de façon rigoureuse mathématiquement parlant, au moins de façon suffisamment approchée pour que notre conviction soit absolue. Je ne sache pas que quelqu'un ait établi que la toxine tétanique ne disparaît pas en agissant. Tout au contraire, on a démontré qu'elle se fixe sur les éléments anatomiques du système nerveux central (dont justement elle modifie le fonctionnement) et qu'une fois fixée par eux, elle est inapte à produire des accidents, si on l'introduit, ainsi retenue, dans l'organisme d'un animal neuf. N'est-on pas autorisé par là à dire que, tout au contraire des diastases, la toxine s'épuise en agissant?

N'insistons pas, et concluons : *les toxines ont maintes propriétés de diastases, mais elles ne sont pas des diastases.* J'ai proposé autrefois de séparer nettement les toxines des diastases et d'en faire des *enzymoïdes* (on pourrait dire aussi des *diastasoïdes,* comme on sépare les globulines de l'albumine, en en faisant des albuminoïdes, afin, tout en les séparant, de rappeler leurs analogies.

Jusqu'ici nous nous sommes exclusivement occupés du tétanos expérimental engendré par l'injection d'une culture pure de bacille tétanique, filtrée ou non filtrée : ce tétanos expérimental est exclusivememt une intoxication.

En est-il de même du *tétanos spontané de l'homme et des animaux ?*

Chez le tétanique, nous l'avons noté, le bacille se rencontre exclusivement dans les tissus de la plaie tétanigène. On peut, au contraire, reconnaître la *présence de la toxine tétanique dans le sang circulant* : il suffit d'en retirer une petite quantité qu'on inoculera (ou dont on inoculera le sérum) à la souris ; un tétanos mortel se développera. D'où l'on peut conclure que, dans le tétanos spontané de l'homme, il y a *infection locale* (microbe exclusivement dans la plaie) et *intoxication générale* (toxine dans le sang, donc dans tous les organes).

Quand on procède à la recherche de la toxine dans les divers organes et tissus de l'animal ayant reçu une injection de culture tétanique en quelque région du corps, on la trouve dans le sang (on la manifeste par l'action tétanigène qu'elle peut exercer sur une souris à laquelle on l'injecte) et dans tous les tissus (débarrassés de leur sang), sauf dans la moelle et dans l'encéphale. Or c'est justement la moelle et accessoirement l'encéphale qui, chez le tétanique, présentent des troubles fonctionnels.

On a été par là conduit à se demander si les éléments anatomiques sensibles à l'action de la toxine fixent, retiennent, masquent ou détruisent la toxine qui agit sur eux, ou encore si quelque substance du protoplasma de l'élément sensible s'unit à la toxine, pour former avec elle une combinaison, ou tout au moins un *complexe* (car complexe ne comporte pas nécessairement l'idée d'une combinaison chimique et rien ne permet ici de parler de combinaison chimique), qui ne présente plus les propriétés de la toxine qu'il renferme ; cette formation d'un complexe ayant d'autre part comme conséquence une modification des propriétés du protoplasma correspondant.

Cette hypothèse peut recevoir un *commencement de démonstration* dans le cas de la toxine tétanique et des éléments du système nerveux central. Préparons une émulsion de cerveau de cobaye et mélangeons-là à une liqueur tétanotoxique, puis injectons à une série de cobayes des quantités croissantes de ce mélange. On constate que la

toxicité de la liqueur a été très fortement diminuée par suite de l'addition d'émulsion cérébrale, qu'elle a été réduite, par exemple, dans la proportion de 10 à 1. Les choses se sont passées comme si la matière cérébrale avait fixé sur soi la toxine et par là l'avait partiellement neutralisée.

Une digression s'impose ici. Nous avons noté ci-dessus que l'inoculation d'une culture tétanique très jeune (moins de 48 h.), faite dans des conditions excluant l'introduction de toxine lors de l'ensemencement, ne produit généralement pas d'accidents chez l'animal inoculé. Et cela, avons-nous dit, parce que cette culture jeune ne renferme pas encore de toxine, et parce que le microbe tétanique disparaît rapidement au point d'injection. Fort bien, mais alors comment se fait-il que le bacille tétanique introduit en une plaie anfractueuse et irrégulière avec les produits divers qui l'ont souillée, s'y développe, y sécrète ses toxines et provoque le tétanos et la mort ? Entre ces deux groupes de faits, n'y a-t-il pas une choquante opposition ?

Il convient de relever une différence entre l'inoculation expérimentale du bacille tétanique et l'infection traumatique et accidentelle : dans le premier cas, nous n'introduisons dans l'organisme que le bacille tétanique ; dans le second, la plaie est souillée de multiples bactéries. Ne pourrait-on supposer que c'est, grâce à la présence dans la plaie de ces *bactéries adjointes*, que le bacille tétanique peut vivre, se multiplier, fabriquer des toxines et provoquer le tétanos ?

Cette hypothèse se justifie expérimentalement. Inoculons sous la peau du cobaye ou de la souris une culture mixte contenant le bacille tétanique sans toxine (culture de 48 h. au maximum, et pour la réalisation de laquelle on a pris des dispositions convenables pour ne pas introduire de toxine lors de l'ensemencement), et un microbe associé convenablement choisi, un staphylocoque p. ex. : le tétanos se développe, alors qu'il ne se fût pas développé en l'absence du staphylocoque ; la mort se produit et à l'autopsie on trouve dans la zone d'inoculation de très nombreux bacilles tétaniques (avec de nombreux staphylocoques), alors qu'on eut eu peine à en trouver quelques

rares en l'absence du staphylocoque ; parfois même, on retrouve le bacille tétanique dans le sang et dans les tissus, alors qu'on ne l'y trouve jamais quand il n'y a pas eu de microbe adjoint.

Nous avons précédemment parlé d'*infections mixtes*, dans lesquelles deux microbes pathogènes vivent côte à côte, travaillant chacun pour soi, participant chacun pour son compte à la production de troubles, qui s'unissent et se combinent pour représenter la symptomatologie de l'infection mixte. Dans l'*infection staphyloco-tétanique*, nous avons aussi une infection mixte, mais qui a un caractère spécial, et c'est que l'un des microbes agents de cette infection mixte ne peut remplir son rôle pathogène que grâce à la présence de son associé. N'est-on pas autorisé, en pareil cas, à parler de *symbiose* des deux espèces microbiennes ? Ce rôle de l'associé du microbe tétanique est encore plus frappant quand au lieu d'être un staphylocoque (pathogène), c'est tout simplement un microbe banal, parfaitement inoffensif lui-même.

Nous ne chercherons pas à interpréter ces faits remarquables pour le moment ; nous nous bornerons à les enregistrer. Ils écartent la choquante opposition apparente que nous signalions ci-dessus, et cela nous suffit actuellement.

— L'histoire de la *toxine diphtérique* est assez exactement calquée sur celle de la toxine tétanique.

Faisons une culture pure de bacille diphtérique sur bouillon de bœuf peptoné à 2 %, légèrement alcalinisé, largement exposé à l'air stérilisé et renouvelé, maintenu à 34° pendant une semaine. Filtrons sur porcelaine dégourdie pour éliminer les microbes; nous obtenons une *liqueur diphtérotoxique*, et nous rapportons ses propriétés toxiques à la *toxine diphtérique* qu'elle contient.

L'inoculation de la liqueur diphtérotoxique produit les mêmes accidents que l'inoculation de la culture totale. Injectons sous la peau de cobayes soit 1 c. c. de culture totale, soit 1 c. c. de liquide de culture filtré : dans les deux cas, après une période d'incubation de 12 à 24 h., les accidents éclatent, prostration du sujet, respiration haletante, etc., et la mort survient au bout de 2 à 3 jours ; — dans les deux cas, à l'autopsie, on trouve au point d'inoculation un œdème gélatineux et une sorte d'enduit semi-membraneux grisâtre, les ganglions lymphatiques correspondant à la zone d'inoculation sont gon-

flés, les viscères et notamment les reins et les capsules surrénales sont fortement congestionnés, les plèvres et le péritoine contiennent un exsudat séreux ou séro-sanguinolent, etc.

La culture totale ou la culture filtrée se comportent aussi de semblable façon chez le lapin : si on en injecte 1 c. c. p. ex., la mort survient en une soixantaine d'heures, et à l'autopsie, on relève la congestion viscérale, le gonflement ganglionnaire, des altérations rénales, etc. Si la culture inoculée est très vieille, les accidents généraux graves ne se produisent généralement pas pour cette dose de 1 c. c. ; le lapin survit ; mais tardivement on voit s'établir, sinon toujours, au moins parfois, des paralysies débutant par le train postérieur de l'animal et envahissant peu à peu l'entière musculature du corps, et cela aussi bien avec la culture filtrée qu'avec la culture totale.

Peut-être convient-il de faire une petite réserve sur l'identité pathologique absolue des deux cultures, non filtrée et filtrée. Quand on badigeonne la muqueuse trachéale avec la culture totale, on provoque la formation de fausses membranes très nettes ; quand on fait le même badigeonnage avec la culture filtrée, il ne semble pas (à lire attentivement les travaux des expérimentateurs) qu'on y réussisse aussi bien. Mais qu'importe : si l'un des symptômes de la diphtérie bacillaire est moins net dans la diphtérie toxique, cela ne prouve pas que la diphtérie ne soit pas une intoxication, mais simplement qu'à l'intoxication diphtérique, qui est presque tout, s'ajoute un élément supplémentaire, qui relève de l'infection, c'est-à-dire de la présence du microbe. Si cette conception est juste, nous devons considérer la diphtérie comme représentant le premier anneau de la chaîne qui réunit la maladie du type intoxication pure (tétanos p. ex.) à la maladie du type infection pure, les anneaux successifs de la chaîne étant représentés par une série de maladies, dans lesquelles l'élément toxique perd de plus en plus de sa valeur, tandis que l'élément infectieux prend une importance de plus en plus grande.

Mais ce sont là des questions de détail, en ce qui concerne la diphtérie. D'une façon générale *les deux cultures non filtrée et filtrée sont pathologiquement équivalentes :* ainsi encore si on inocule sous la peau, dans le péritoine ou dans les muscles du rat ou de la souris soit la culture diphtérique totale, soit la culture filtrée, on ne provoque aucune espèce d'accidents, même si la dose injectée est considérable : l'analogie est négative, sans doute, dans ce cas, mais il y a analogie. Cet intéressant essai, notons-le en passant, nous offre un premier exemple d'immunité naturelle contre le microbe et contre sa toxine, ou plus exactement et pour ne pas s'écarter des faits observés, contre la culture totale et contre la culture filtrée.

La toxicité des liqueurs diphtérotoxiques, ou cultures filtrées est

éminemment variable : elle dépend de la race du bacille diphtérique, de la composition du milieu, de la température et de la durée de la culture ; elle varie selon l'espèce animale employée pour les essais.

Ajoutons que si l'injection de la liqueur diphtérotoxique sous la peau, dans les muscles, dans le péritoine ou dans les veines produit une maladie grave, mortelle si la dose est suffisante, l'ingestion de cette liqueur est totalement inoffensive. Et cette observation est vraie pour toutes les toxines microbiennes ou plus exactement pour presque toutes : elles n'agissent que par voie parentérale (c'est-à-dire par voie autre que la voie digestive).

La toxine diphtérique est profondément altérée à 100°, et l'on peut injecter dans les veines du lapin 30 à 40 c. c. de liquide diphtérotoxique porté à 100° pendant 1/2 h., sans provoquer d'accidents graves, alors qu'il suffisait de 1 c. c. du même liquide non chauffé pour tuer le lapin en 3 jours. Il suffit même de chauffer la liqueur toxique à 70° pour la rendre inoffensive ; déjà elle est fortement atténuée si on la maintient 2 h. à 60°.

En cela la toxine diphtérique ne diffère pas de la toxine tétanique. Il y a pourtant entre elles une différence. La toxine tétanique soumise à l'action de la température de 100° ou même de 65° est totalement détruite et devient absolument inoffensive pour les animaux. La toxine diphtérique chauffée à 100° ne produit plus sans doute les accidents graves qu'engendre la toxine non chauffée et la mort ; mais elle n'est pas rigoureusement inoffensive : on constate en effet, si on en injecte de fortes doses chez le lapin, que l'animal présente dans la suite sinon toujours, au moins parfois, des paralysies surtout localisées dans les membres postérieurs, et le plus souvent une cachexie progressive qui conduit l'animal à la mort en quelques mois. Ces faits conduisent à dissocier, légitimement semble-t-il, dans l'action toxique du liquide diphtérique plusieurs actions distinctes, ou comme on dit quelquefois à distinguer plusieurs toxines dans la toxine diphtérique.

Nous pourrions établir que la toxine diphtérique, comme la toxine tétanique, soluble dans l'eau est insoluble dans l'alcool fort, et précipitée de sa solution aqueuse par l'alcool fort, ajouté en quantité suffisante pour que le mélange en contienne 80 %. Les deux toxines sont d'ailleurs beaucoup moins résistantes vis à-vis de l'alcool fort que ne le sont les diastases ; ces dernières ne s'altèrent pas à son contact même prolongé, les toxines s'y atténuent assez rapidement et finissent par s'y détruire.

Aussi vaut-il mieux séparer la toxine diphtérique du liquide de culture filtrée en l'entraînant dans le précipité floconneux de phosphate tricalcique, qu'on y peut produire en ajoutant du phosphate trisodique à 1 % et de chlorure de calcium à 1 %.

Supposons que, sans le dessécher, on insère sous la peau du cobaye 2 cgr. de ce précipité phosphatique, le cobaye meurt en 4 jours. Or ces 2 cgr. de précipité ne contiennent pas plus de 0 mgr. 2 de matière organique. Si nous admettons que cette matière organique n'est que de la toxine, ce qui est exagéré, nous constaterons que 0 mgr. 2 de toxine tuent 400 gr. de cobaye, c'est-à-dire une quantité 20 000 000 de fois plus grande. Ainsi ressort, pour cette toxine, la disproportion déjà notée pour la toxine tétanique.

Dans cette expérience, un détail frappe l'observateur : les granulations phosphatiques chargées de toxine se recouvrent quand on les introduit dans le tissu sous-cutané d'un dépôt fibrineux riche en leucocytes ayant de manifestes analogies avec les fausses membranes diphtériques. Voilà qui achève le parallèle que nous tracions ci-dessus des deux cultures, la culture non filtrée et la culture filtrée : la condition requise pour que se forment les fausses membranes est la présence d'un élément solide, le microbe dans la diphtérie spontanée ou engendrée par la culture totale, le grain de phosphate dans le cas présent.

Quand nous aurons constaté que la toxine diphtérique peut dialyser, modérément du reste ; quand nous aurons reconnu qu'elle peut être ingérée en quantité considérable sans provoquer d'accidents, nous connaîtrons les principaux faits de son histoire.

Il est relativement facile de démontrer que *cette toxine se produit dans les diphtéries spontanées de l'homme*, et diffuse dans l'organisme du malade. En effet, l'extrait aqueux de fausses membranes diphtériques débarrassé de microbes par filtration est toxique pour le cobaye et pour le lapin et détermine, chez ce dernier, ces paralysies tardives si caractéristiques de la diphtérie de cet animal. La toxine existe dans les tissus des diphtériques : en prélevant, à l'autopsie, des tissus divers, du tissu splénique p. ex., et en préparant leur extrait aqueux, on constate que celui-ci détermine les accidents diphtériques et notamment les paralysies tardives quand on l'injecte aux lapins.

La diphtérie, comme le tétanos, *est donc une intoxication ; le bacille n'intervient* (réserve faite pour les fausses membranes) *que comme producteur de toxine.*

— Voici un troisième exemple de toxine microbienne, que nous traiterons sommairement pour ne pas trop nous répéter, et parce que son étude n'a pas été poussée à fond. Parmi les dysenteries cliniquement définies, on distingue *les dysenteries des pays tropicaux ou amibiennes* (qu'on considère comme des infections par l'*Amœba histolytica*) et les *dysenteries des pays tempérés ou bacillaires* qui sont des infections produites par un bacille, appelé *bacille dysentérique* ou *bacille de Shiga-Kruse*. C'est un bacille présentant des analogies avec le bacille typhique, mais qu'on en peut nettement distinguer.

Si on fait une culture pure de ce bacille et si on filtre sur porcelaine, on obtient une liqueur, qui, injectée aux animaux sensibles, souris, lapin, cheval, chat, chien, singe, etc., détermine les mêmes accidents qu'eût provoqués l'injection de la culture totale, accidents et lésions rigoureusement superposables aux accidents et lésions qu'on observe dans la dysenterie épidémique de l'homme. Rappelons que, chez l'homme, la maladie se traduit par une colite compliquée de phénomènes paralytiques, et qu'à l'autopsie on relève des lésions de la muqueuse du gros intestin et des cellules des cornes antérieures de la moelle épinière.

La *toxine dysentérique* résiste mieux à la chaleur que les toxines tétanique et diphtérique : elle supporte sans s'altérer un chauffage de 1 h. à 60°, peut-être même de 70° ; ce n'est qu'à 80° qu'elle se détruit rapidement.

Si on injecte sous la peau d'un animal sensible la culture totale, les accidents éclatent et évoluent, mais le bacille diminue rapidement et souvent même disparaît au lieu d'inoculation ; jamais on ne le retrouve en quelque autre région de l'organisme, les choses se passant ainsi comme elles se passent à la suite de l'inoculation sous-cutanée de la culture tétanique totale.

— Nous signalerons encore une quatrième toxine. On appelle *botulisme* une intoxication alimentaire de l'homme consécutive à l'ingestion de viandes et de poissons (ou de conserves) avariés mais non putréfiés, caractérisée par divers troubles nerveux, parésies, paralysies, troubles de sécrétion : on notera p. ex. paralysie de l'accommodation, dilatation pupillaire, chute de la paupière supérieure, sécheresse des muqueuses buccale et pharyngée, tous phénomènes qui persistent longtemps quand le sujet revient à la santé.

Or on a retiré des viandes et poissons engendrant le botulisme un bacille spécial dit *bacillus botulinus* anaérobie strict, qu'on peut cultiver aisément sur bouillon glycosé alcalinisé à 20°. Cette culture inoculée sous la peau du cobaye à la dose de 0 c. c. 0001 le tue en 3 jours ; elle tue le lapin à la dose de 0 c. c. 001 ou même moins. La culture filtrée est équivalente à la culture totale ; c'est-à-dire que les accidents observés sont dus à une toxine, et elle engendre chez la souris, le cobaye, le lapin, le chat, le singe, les mêmes phénomènes si typiques qu'on relève chez l'homme dans le botulisme.

Lorsqu'on inocule la culture totale sous la peau, il ne se produit pas d'infection ; le microbe ne se développe pas et ne se propage pas en dehors de la zone d'injection, ressemblant en cela aux bacilles diphtérique, tétanique et dysentérique : les accidents produits par la culture sont dus exclusivement à la toxine qu'elle contient et que le microbe avait fabriquée in vitro. Le botulisme médical est la consé-

quence de l'ingestion de viandes ou poissons renfermant la toxine fabriquée par le microbe hors de l'organisme.

L'histoire de cette intoxication présente une particularité. Quand on fait ingérer à un animal sensible à leur action (quand elles sont injectées sous la peau ou dans les veines) les toxiques tétanique et diphtérique, on ne provoque pas d'accidents. Il en est de même quand on fait ingérer au chat et au lapin des viandes et poissons avariés ou la culture du bacillus botulinus ; mais il suffit d'en faire ingérer de très minuscules quantités au singe, ou à la souris, ou encore au cobaye pour faire apparaître, après une incubation de 24 h. (variable selon la dose) p. ex. les accidents typiques du botulisme.

Voilà un résultat qui doit nous mettre en garde contre les généralisations précipitées. Les toxines tétanique et diphtérique n'agissent que *par voie parentérale*, et ce caractère nous avait paru assez frappant pour que nous en fissions un moyen pratique de distinguer entre les intoxications par toxines vraies (exclusivement réalisables par voie parentérale) et les intoxications par substances chimiques, ptomaïnes, etc. (réalisables par voie digestive, comme par voie parentérale). Or, nous trouvons ici une exception, conditionnelle à vrai dire, puisqu'elle dépend de l'espèce animale employée pour les essais, mais une exception pourtant. Donc un caractère qui nous avait d'abord paru très typique n'a pas la valeur absolue que nos esprits, amoureux des classifications précises et rigides, lui avaient assignée. N'oublions pas que, si l'homme fait des catégories bien tranchées, pour satisfaire à un besoin impérieux de son esprit, la nature ménage toujours les transitions et les adoucit à l'extrême.

Parmi les fermentations, il en est pour lesquelles le ferment cède au milieu des diastases aptes à produire une partie des transformations fermentatives, mais seulement une partie, le reste relevant de l'activité propre du ferment: l'invertine de levure passe dans le milieu et y intervertit la saccharose ; le sucre interverti subit ensuite l'action fermentative proprement dite. La diastase n'accomplit ici qu'une partie des transformations chimiques qui font passer la saccharose à l'état d'alcool et d'acide carbonique.

Nous retrouvons en pathologie microbienne des faits équivalents : dans certaines infections les toxines engendrées par le microbe ne provoquent que quelques-uns des phénomènes de l'entière infection.

Nous savons que l'inoculation d'une culture du *microbe du choléra des poules* détermine chez la poule une maladie caractérisée par un

sommeil invincible, une diarrhée muco-sanguinolente, des lésions d'entérite hémorragique, de la congestion du foie, de la rate, etc. Filtrons la culture sur porcelaine, et injectons un peu du filtrat à une poule, elle devient bientôt somnolente, comme si elle avait le choléra des poules, mais les autres manifestations et les lésions de la maladie font défaut. Le filtrat possède donc une partie, mais une partie seulement des propriétés pathogènes de la culture totale.

A l'autopsie des lapins morts d'une *infection streptococcique expérimentale*, on trouve souvent le sang hématolysé dans les vaisseaux. D'autre part, si on ajoute à une culture streptococcique, en voie de développement rapide, un peu de sang défibriné de lapin ou de quelque autre animal de laboratoire, on constate, au bout de quelque temps, que le pigment sanguin a quitté les globules pour passer dans le milieu. Or on peut tout aussi bien produire l'hématolyse in vitro en ajoutant les globules rouges à une culture de streptocoques débarrassée des microbes par filtration sur porcelaine : l'hématolyse est donc la manifestation d'une action toxique exercée par une substance dissoute dans la liqueur de culture sur un élément figuré déterminé, comme l'exaltation du pouvoir excito-réflexe de la moelle, constatée dans le tétanos, est la manifestation d'une action toxique exercée par une substance dissoute dans la liqueur de culture sur un élément anatomique déterminé, qui est la cellule nerveuse médullaire. — L'hématolyse n'étant que l'un des éléments de la symptomatologie de l'infection streptococcique, et non des plus constants, les cultures filtrées ne provoquant pas les autres manifestations de l'infection, on est conduit à rapprocher le streptocoque de la levure, et à dire qu'il déverse dans le milieu une toxine apte à provoquer une partie, mais une partie seulement des accidents qu'il engendre. Les streptococcies sont donc des *infections-intoxications* et non des intoxications pures.

Le *staphylocoque pyogène* abandonne au liquide de l'exsudat, dont il a provoqué la formation dans la zone d'inoculation, une substance dite *leucocidine* (le bacille pyocyanique et quelques autres microbes produisent aussi des leucocidines), sous l'influence de laquelle les leucocytes changent d'apparence et meurent. L'étude de la leucocidine n'est pas faite de façon pleinement satisfaisante ; on sait pourtant qu'elle est fragile, comme les toxines, et en particulier qu'elle ne résiste pas à un chauffage à 58-60°. C'est grâce à cette substance que le staphylocoque est puissamment pyogène, les leucocytes devenant globules de pus dès qu'ils pénètrent dans la zone où a diffusé la leucocidine. Comme la propriété pyogène n'est pas la seule propriété pathogène du staphylocoque, mais qu'elle est la seule possédée par le milieu dans lequel végète le staphylocoque, nous pouvons conclure que les staphylococcies sont, elles aussi, des infections-intoxications et non des intoxications pures.

Enfin, de même que, parmi les ferments il en est qui ne laissent diffuser aucune diastase à laquelle on puisse rapporter les phénomènes essentiels, ou tout au moins quelque phénomène de la fermentation, de même, parmi les microbes pathogènes, il en est qui ne laissent diffuser dans le milieu aucune toxine à laquelle on puisse rapporter les phénomènes morbides, ou quelque phénomène morbide, tout au moins.

Le *pneumocoque*, p. ex., microbe témoin et cause de la pneumonie lobaire, dont on peut étudier l'action infectieuse sur le lapin et la souris, ne produit pas (cultivé sur bouillon) de toxine capable de provoquer l'apparition de l'un ou de quelques-uns des symptômes qui se manifestent à la suite de l'inoculation du microbe. — On pourrait fournir maints autres exemples équivalents.

En étudiant les facteurs de la fermentation alcoolique, nous avons reconnu que le dédoublement du sucre en alcool et acide carbonique est produit par un agent contenu dans le protoplasma de levure et ne diffusant pas dans le milieu, l'alcoolase, dont nous avons fait le type des diastases endocellulaires ; nous l'avons isolée pourtant de la matière vivante, en détruisant la levure par broiement et par pression.

En poursuivant notre parallèle entre les ferments et les microbes pathogènes, nous sommes amenés à rechercher si ceux-ci ne possèdent pas des *endotoxines*, qui ne pourraient être isolées que par désagrégation du corps microbien, désagrégation expérimentale réalisée par un procédé convenable, ou désagrégation automatique, comme il arrive après leur mort. En supposant qu'on ait démontré l'existence d'endotoxines, on serait autorisé, semble-t-il, à poser cette question : ne seraient-elles pas la cause, ou l'une des causes des accidents que provoque l'inoculation d'une culture microbienne, de celles qui ne renferment pas de toxine proprement dite ?

Voici d'abord des faits.

Si on filtre sur porcelaine une *culture pesteuse récente* (48 h. au maximum), on obtient un filtrat presque totalement inoffensif pour le rat, la souris, le cobaye, etc. Si on filtre la même culture vieille de

plusieurs semaines, le filtrat est toxique pour ces animaux. — Il en est de même si l'on opère avec une *culture cholérique*.

Les auteurs ne sont pas d'accord sur la significatiou de ces faits : les uns imaginent que les microbes qui sont morts durant que la culture vieillissait se sont désagrégés, laissant passer dans le milieu des endotoxines, qui ne sortaient pas de leur protoplasma vivant; les autres supposent que les produits toxiques des vieilles cultures sont des toxines ordinaires, équivalentes aux exotoxines diphtérique, tétanique, etc., mais qui n'ont été engendrées par le microbe que dans des conditions spéciales de milieu, sur lesquelles nous n'avons aucune donnée précise. Mais à quoi bon formuler des hypothèses? Constatons que ces observations ne prouvent pas qu'il existe des endotoxines ; reconnaissons aussi qu'elles ne prouvent pas qu'il n'en existe pas.

Le *bacille typhique* et les *bacilles paratyphiques* fournissent des cultures sans toxine proprement dite. Mais si on a fait une culture sur bouillon peptoné, 1 mois à 37°, si on l'alcalinise par la soude, si on l'évapore lentement à 60° à consistance sirupeuse, si on y ajoute de la glycérine, et si, après l'avoir laissé séjourner 2 semaines à l'étuve, on l'étend d'eau, si enfin on la neutralise par l'acide lactique, on obtient une liqueur toxique pour le cobaye. — Si on cultive sur bouillon glycériné à 6 °/₀ des *bacilles tuberculeux*, en les maintenant 6 semaines à 37°, si on stérilise le tout, bouillon et voile microbien, à 110°, si on concentre au dixième et si on filtre, on obtient une liqueur (c'est la *tuberculine*) toxique. En opérant sur culture du *bacille de la morve* de semblable façon, on obtient une liqueur (c'est la *malléine*) également toxique.

Mais ici encore la signification de ces faits nous échappe : ces liqueurs toxiques renferment-elles une endotoxine libérée par suite de la désagrégation des bacilles, que nous avons réalisée dans nos manipulations? Ou bien les éléments toxiques, dont nous constatons la présence, résultent-ils de l'action de nos manipulations sur les éléments chimiques de la culture? Mieux vaut assurément réserver la conclusion, et attendre, pour la formuler, que des faits positifs nous l'imposent.

Bref, nous ne pouvons actuellement ni affirmer ni nier l'existence d'endotoxines. Leur existence est hypothétique ; mais rien ne prouve qu'elles n'existent pas.

Notons enfin que les bouillons de cultures microbiennes renferment souvent des substances toxiques du groupe des *ptomaïnes*, chimiquement définissables, et isolables par les procédés chimiques courants. Ces substances ne doivent

pas retenir longuement notre attention, parce que, dans les infections médicales, elles sont, dans l'organisme, ou détruites ou éliminées par le rein (au moins lorsqu'il est sain), avant d'avoir atteint une concentration suffisante pour produire des accidents. Il convient d'ailleurs d'insister sur ce fait capital: *les toxines proprement dites sont spécifiques*, chacune correspondant à une espèce microbienne donnée ; les ptomaïnes ne le sont pas, une même ptomaïne pouvant se trouver dans des cultures de microbes très nettement dissemblables.

CHAPITRE VII

LES PROTÉINES TOXIQUES ET LES VENINS

SOMMAIRE. — *L'intoxication peptonique ou protéosique du chien ; la crise d'intoxication peptonique : la chute de pression et ses caractères essentiels, l'anurie, l'incoagulabilité du sang de peptone. — L'intoxication peptonique n'est pas due aux impuretés de la peptone. — Les extraits d'organes et les conséquences de leur injection intraveineuse chez le chien ; la crise toxique et ses caractères ; sa ressemblance avec la crise d'intoxication peptonique. — Une différence : action coagulante in vivo et in vitro des extraits d'organes. — La nucléoprotéide des extraits d'organes. — Variabilité des symptomatologies protéotoxiques. — Les sérums toxiques en général et le sérum d'anguille en particulier : accidents consécutifs à son injection intraveineuse. — L'ichtyotoxine est la sérumalbumine. — Des symptômes complémentaires de l'intoxication par le sérum d'anguille : actions caustique, hématolytique, cachectisante. — Le sérum d'anguille, terme de passage des protéines toxiques aux toxines microbiennes. — Etudes sur le lapin. — La peptone inoffensive pour le lapin : immunité peptonique du lapin ; poisons chimiques et poisons protéiques. — Injections d'extraits d'organes dans les veines du lapin : confrontation des résultats de ces injections chez le chien et chez le lapin ; la question d'espèce animale. — Protéotoxies ou intoxications protéiques.*

Vue d'ensemble sur les venins. — Injections intraveineuses ou plus généralement parentérales. — Venins protéotoxiques et venins mixtes. — Injections de venin de Crotalus adamanteus, et conséquences de ces injections selon la dose ; venin protéotoxique type sérum d'anguille. — Venin de Vipera Russelii protéotoxique et coagulant, venin coagulant type extrait d'organes. — Venin de vipère, venin d'abeille. — Venin de cobra et ses caractères protéotoxiques ; cobraïsation et ses manifestations successives. — Venin de cobra et curare ; cobraïsation et curarisation. — Action anticoagulante du venin de cobra. — Les venins australiens curarisants et coagulants type extrait d'organes. — Les venins coagulants type thrombine : venins de bothrops et de cascavel ; cas du venin de Crotalus adamanteus : toxicologie et zoologie.

L'INJECTION intraveineuse de *peptone* ou de *protéoses* (peptone de Witte, p. ex.) détermine, chez le chien, des accidents multiples, dont les principaux sont la *chute de pression artérielle* et l'*anurie*, l'*incoagulabilité du sang*, un *état de stupeur profonde* et la *résolution musculaire*, une *production surabondante de lymphe*, etc.

Si on injecte 5 cgr. de peptone de Witte par kgr. de chien (en solution à 10 °/₀ dans l'eau salée à 1 °/₀), la crise éclate 1/2 à 3/4 de min. après l'injection : le chien émet des matières fécales, s'agite, pousse des cris sourds pendant quelques instants, puis, après une courte période de calme, il tombe sur le flanc, et durant 8 à 10 min. reste couché, faisant, surtout au début, quelques profondes inspirations. De 12 à 15 min. après l'injection, le chien se remet sur pattes, et, presque aussitôt, commence à courir : la crise est passée.

Si on injecte 30 cgr. de peptone par kgr. de chien, la période d'excitation est plus précoce ; elle débute 20 sec. après l'injection : on note des évacuations fécales, des efforts de vomissement et des vomissements ; puis, très rapidement, l'animal tombe inerte sur le flanc, la tête pendante, les yeux ouverts, le réflexe oculo-palpébral, et plus généralement tous les réflexes conservés, la respiration régulière, mais coupée de temps en temps par des inspirations profondes. Puis lentement le chien revient progressivement à l'état normal ; après quelques heures, tout a disparu.

L'injection intraveineuse de peptone provoque une *chute de la pression artérielle* dont la grandeur et la durée dépendent essentiellement de la quantité de peptone injectée.

Si, p. ex., on injecte dans les veines 30 cgr. de peptone par kgr., la dépression est précoce (10 à 15 sec. après l'injection) et très brusque (le minimum est atteint 10 à 15 sec. après le commencement de la chute) ; elle est considérable (elle tombe de 120-150 mm. de mercure à 20-10 mm.). Elle se maintient plus ou moins longtemps (1/2 h., 1 h. au plus) à ce minimum, puis remonte lentement, mais sans arrêt, pour recouvrer tardivement (quelques heures après l'injection) sa primitive valeur. Les oscillations cardiaques de la pression artérielle, généralement très étendues chez le chien normal, s'atténuent parfois jusqu'à disparaître en cours d'intoxication peptonique, puis réapparaissent et s'accentuent à mesure que la pression remonte vers sa valeur normale. Le rythme cardiaque n'a pas été modifié.

Si la dose injectée n'est que de 5 cgr. de peptone par kgr. la dépression est plus tardive (25-30 sec. après l'injection), moins brusque (le minimum n'est atteint que 1 1/2 à 2 min. après le début) moins profonde (le minimum sera p. ex. de 40 mm. de mercure) et moins durable (la pression remontera p. ex. à partir de la 4e min., et déjà 15 à 20 min. après l'injection, elle aura recouvré sa valeur normale). On note encore l'atténuation temporaire des oscillations cardiaques de la pression ; on constate la conservation parfaite du rythme du cœur.

Pour obtenir ces résultats, il faut : 1° faire l'injection de la peptone dans les veines (introduite dans l'estomac, l'intestin grêle, le gros intestin, injectée dans la cavité péritonéale, dans les muscles ou sous la peau, la peptone ne produit pas d'accidents); 2° pousser assez brusquement l'injection (si l'injection intraveineuse est faite avec une lenteur extrême, il se peut qu'aucune chute de pression ne soit reconnaissable ; si l'injection est faite avec une certaine lenteur, les accidents sont moins graves et moins durables, que si, la dose restant la même, l'injection avait été faite très brusquement).

Si on renouvelle l'injection de peptone, à la même dose et avec la même brusquerie, quand les accidents dus à la première injection (et notamment la dépression) ont disparu, on les voit réapparaître, mais avec une intensité et une durée moindres que la première fois. On a dit — nous estimons du reste qu'on a eu tort d'employer cette expression — qu'une première crise d'intoxication peptonique *immunise,* au moins partiellement, le chien contre une nouvelle injection semblable à la première, au moins pendant les premières heures suivant la première crise.

L'*anurie* ou la *diminution de la production d'urine* de la *crise d'intoxication peptonique* est la conséquence nécessaire de la chute de pression : on sait que, toutes autres conditions égales, la quantité d'urine produite est d'autant moindre que plus basse est la pression artérielle, et que l'urine ne se produit plus à partir du moment où, et aussi longtemps que la pression est égale ou inférieure à 40 mm. de mercure. L'anurie n'est pas vraiment un fait d'intoxication peptonique ; elle est la conséquence de la dépression, qui, elle, est véritablement un fait d'intoxication peptonique.

Le *sang* extrait des artères du chien, déjà très peu de temps (moins de 1 min.) après l'injection de protéoses dans les veines, aux doses suffisantes pour produire une chute de pression, au moins légère, *est non spontanément coagulable.* Conservé au laboratoire, il reste liquide plusieurs jours et la putréfaction l'envahit sans qu'on y ait jamais pu apercevoir quelque filament fibrineux.

De ce sang non spontanément coagulable (*sang de peptone*), on peut séparer par centrifugation le plasma (*plasma de peptone*), et reconnaître qu'il contient du fibrinogène typique (coagulable à 56° et précipitable par les sels capables de précipiter le fibrinogène du plasma normal). Ce plasma de peptone peut d'ailleurs subir la coagulation fibrineuse : c'est ce qui arrive notamment quand on l'additionne de thrombine, ou de chlorure ou sulfate de chaux à 1 °/₀, ou de 2 à 3 vol. d'eau distillée.

Quand on injecte de 20 à 30 cgr. de peptone par kgr. de chien, le sang (qui représente environ 1/12 du poids total) en contient de 2 gr. 4 à 3 gr. 6 par litre. Recevons du sang amené directement de l'artère dans un verre contenant de la peptone en quantité convenable pour que le mélange en renferme environ 3 gr. par litre ; nous constatons que la coagulation se fait dans les mêmes conditions que si le sang reçu n'avait pas été additionné de peptone. Ce n'est donc pas la peptone qui rend le sang de peptone non spontanément coagulable ; c'est nécessairement une substance de formation nouvelle qui n'existait pas dans le sang normal, mais qui passe dans le sang à la suite de l'injection de peptone.

Cette substance néoformée sous l'influence de la peptone injectée présente d'évidentes analogies avec l'*extrait de têtes de sangsues* ou avec l'*hirudine*, qui, l'un et l'autre, sont capables, mélangés au sang au moment de la prise, de le rendre incoagulable.

Cet état d'incoagulabilité du sang de l'animal peptoné ne persiste pas très longtemps : déjà 2 ou 3 h. après l'injection, il a disparu : la coagulabilité est redevenue normale. Si, à ce moment (ou un peu plus tard, pourvu que ce soit moins de 24 h. après la première injection), on fait une nouvelle injection semblable en tout à la première, le sang ne redevient pas incoagulable. On a dit — nous estimons qu'on a eu tort d'employer ce mot — qu'une première injection de peptone *immunise,* après un certain temps et pour une courte durée, le chien contre l'action anticoagulante de la peptone.

Divers expérimentateurs se sont appliqués à extraire des mélanges complexes que sont les peptones commerciales, et notamment la peptone de Witte, la ou les substances auxquelles elle doit sa remarquable toxicité ; mais les produits qu'ils ont présentés diffèrent très notablement d'une expérience à l'autre, et l'on est autorisé à se demander si la toxicité de ces produits n'est pas due tout simplement aux impuretés peptoniques qu'ils contiennent encore, la peptone étant le véritable agent toxique de la peptone de Witte.

C'est à cette dernière conception que nous nous rattacherons, parce que les peptones obtenues par action du suc gastrique sur les protéines les plus diverses, extraites des matières les plus dissemblables, possèdent toutes et toujours, pour le chien, une toxicité se manifestant par des accidents en tout semblables à ceux que nous avons décrits (pourvu que la protéolyse gastrique n'ait pas été poussée à fond) ; les peptones d'origines diverses (provenant de fibrine, d'ovalbumine, de caséine, de gélatine) ne différant que par la grandeur de leur pouvoir toxique.

Nous pouvons donc légitimement employer l'expression d'*intoxication peptonique* du chien.

— On connaît nombre de substances autres que les peptones, qui, injectées dans les veines du chien, déterminent des accidents très analogues à ceux de l'intoxication peptonique, p. ex, les *extraits d'organes*, c'est-à-dire les liquides de macération de tissus divers, foie, rein, cerveau, muscle, muqueuse gastrique ou intestinale, etc., dans l'eau salée à 1 %. Comme les peptones, ils produisent une chute de pression artérielle, une incoagulabilité du sang, et en général tous les autres accidents, graves ou légers, notés à la suite de l'injection intraveineuse de peptone.

En injectant p. ex. une macération d'intestin dans les veines du chien, on a observé les faits suivants. Environ 30 sec. après l'injection, le chien s'agite, émet des urines, tombe sur le flanc, incapable de se tenir sur les pattes, puis il demeure immobile en état de torpeur profonde. Déjà 2 min. plus tard, il se soulève en chancelant, vomit, émet des matières fécales ; puis le mieux apparaît, s'accentue rapidement, et, 10 min. après l'injection, la crise a totalement disparu. N'est-ce pas la description déjà donnée d'une crise légère d'intoxication peptonique ?

La chute de pression se produit 30 sec. après l'injection, en même temps qu'éclate la crise d'agitation, chute brusque, considérable mais peu durable, au moins parfois et notamment dans le cas où l'extrait

est une macération d'intestin; simultanément du reste la pression remonte et les accidents s'atténuent. Le sang non spontanément coagulable présente toutes les propriétés du sang de peptone, et, en particulier, il peut, comme lui, être amené à coaguler par dilution à l'aide d'eau distillée, par addition de 1 % de sel de chaux, etc.

Comme dans l'intoxication peptoniqne, on retrouve les immunités antidépressives et anticoagulantes vis-à-vis d'une seconde injection d'extrait d'organe, et avec les mêmes caractères qualificatifs et quantitatifs.

Les macérations d'organes ne renferment pas de peptone ou de substance chimiquement voisine des peptones ; on ne saurait donc considérer les accidents qu'elles déterminent comme des crises d'intoxication peptonique. Mais elles renferment des protéines, et on peut démontrer, en isolant et purifiant ces protéines, que la ou les substances toxiques des macérations d'organes sont inséparables des protéines qui y sont contenues, tant et si bien qu'on peut admettre que *ces substances toxiques sont les protéines mêmes des extraits d'organes*. Et pour le bien marquer, on parle volontiers d'*intoxication protéique* ou de *protéotoxie* comme on parlait tout à l'heure d'*intoxication peptonique* ou de *peptotoxie*. Comme les peptones sont des protéines (elles présentent la constitution chimique générale et les colorabilités des protéines), on peut considérer l'intoxication peptonique comme un cas particulier de l'intoxication protéique, ou, si l'on veut, la peptotoxie comme un cas particulier de protéotoxie.

Ne nous hâtons pourtant pas trop d'assimiler exactement et rigoureusement ces deux intoxications : l'identité n'est pas absolue. Avec les peptones, l'injection d'une quantité quelconque produit toujours l'*incoagulabilité du sang*, et si, par hasard, la mort survient durant la crise (ce qui est exceptionnel), on trouve toujours le sang liquide dans les vaisseaux. Avec les macérations d'organes, si l'injection de faibles doses détermine l'incoagulabilité du sang et ne provoque jamais la mort, l'injection de doses plus considérables détermine souvent une *mort foudroyante*, et à l'autopsie, on constate que les gros vaisseaux, et plus particulièrement les grosses veines (porte, sus-hépatique, caves) et le cœur droit, sont remplis de volumineux caillots.

La mort est la conséquence d'une *thrombose généralisée*, ou au moins très étendue du système veineux.

La substance contenue dans les extraits d'organes et qui leur confère des propriétés toxiques, en particulier leur action coagulante, est *nucléoprotéidique*. Nucléoprotéides ou extraits d'organes d'ailleurs ne sont anticoagulants que si on les injecte dans les veines, comme les peptones ; *leur action coagulante par contre, se peut manifester in vivo* (nous venons de le dire) *et in vitro* (au moins sous l'apparence d'une *accélération considérable de la coagulation du sang* épanché).

Convient-il, en raison de cette action coagulante spéciale des extraits d'organes et des solutions de nucléoprotéides, de séparer absolument ces liqueurs des solutions de peptones, qui sont exclusivement anticoagulantes ? Nous ne le croyons pas, parce qu'il importe surtout de rapprocher les unes des autres toutes ces substances qui, injectées dans les veines du chien, déterminent un ensemble de phénomènes très constants et très typiques, à savoir une *chute de pression brusque, considérable, temporaire, une incoagulabilité du sang* (au moins pour les doses faibles d'extraits d'organes) et quelques autres phénomènes, tels qu'une *hypoleucocytose primitive suivie d'une hyperleucocytose tardive*, une *lymphogénèse abondante*, une *exagération du péristaltisme intestinal*, etc.

Nous noterons simplement que, pour certaines protéines toxiques, aux propriétés fondamentales s'en ajoute une nouvelle, qui leur est propre et non plus universelle, l'action coagulante : *la symptomatologie se complique alors d'un élément supplémentaire.*

— Un autre groupe de substances toxiques à rapprocher des précédentes est celui des *sérums toxiques* : la mieux étudiée et peut-être la plus intéressante de toutes est le *sérum de l'anguille* (et plus généralement des murénides). Le sérum d'anguille est extrêmement toxique pour le chien : il suffit d'en injecter 0 c. c., 02 dans les veines du chien pour provoquer la mort. Les accidents, d'une façon très générale, sont ceux qu'on a reconnus dans les intoxications peptonique et nucléoprotéidique.

Aussitôt après l'injection, le chien présente une violente agitation, puis il tombe à terre inhabile à se tenir debout ; il émet des urines et des matières fécales ; puis il présente soit des convulsions, soit un

état comateux ; tantôt il meurt rapidement, tantôt les phénomènes s'atténuent et l'animal revient à la santé.

Le sang retiré des vaisseaux peu de temps (moins de 2 h.) après une telle injection est incoagulable et présente toutes les propriétés du sang de peptone également incoagulable. Comme les peptones, le sérum d'anguille n'est anticoagulant qu'in vivo ; tout d'ailleurs, jusqu'aux plus fins détails, est identique à ce qui se passe pour le sang peptoné ou pour le sang nucléoprotéidique non spontanément coagulable.

La chute de pression sanguine ne diffère ni en grandeur, ni en brusquerie, ni en quoi que ce soit de la chute de pression des intoxications peptonique et nucléoprotéidique.

La substance toxique du sérum d'anguille est la sérumalbumine, qu'on appelle *ichtyotoxine*. Et cela vient encore justifier l'expression d'intoxication protéique ou de protéotoxie, employée pour désigner les remarquables intoxications que nous étudions actuellement.

La substance toxique du sérum d'anguille est totalement indialysable ; ce n'est donc ni un sel, ni une peptone ; elle est précipitée par l'alcool fort comme les protéines du sérum ; elle est détruite à 70°, température de coagulation de la sérumalbumine ; elle est détruite in vitro par la pepsine chlorhydrique et in vivo par le suc gastrique, comme les protéines. Elle n'est pas précipitée par le sulfate de magnésie à saturation, dans des conditions par conséquent où la totalité des globulines est précipitée, les albumines ne l'étant pas. *L'ichtyotoxine* est donc *la sérumalbumine d'anguille.*

Une *remarque* pourtant. De même que dans l'intoxication nucléoprotéidique, nous avons reconnu un fait nouveau, qui, ne se présentant pas dans l'intoxication peptonique, complique la symptomatologie (action coagulante), de même reconnaissons-nous ici trois actions supplémentaires exercées par le sérum d'anguille et que nous ne rencontrons pas dans les protéotoxies antérieurement étudiées.

Le sérum d'anguille exerce sur les muqueuses une *action caustique, irritante et nécrosante* très intense. Il exerce une *action hématolytique* intense, facile à constater in vitro, quand on l'ajoute en quantité minime à du sang défibriné, et in vivo grâce à l'hémoglobinurie qui en est la conséquence. Il exerce enfin une *action cachectisante*,

surtout quand on répète à plusieurs reprises, et en les espaçant de semaine en semaine p. ex., les injections à faible dose.

Bref, le sérum d'anguille détermine, chez le chien, les symptômes fondamentaux de l'intoxication peptonique, ou plus généralement protéotoxique, mais le tableau est complété par l'adjonction de divers symptômes nouveaux. Malgré ces dissemblances, il paraît avantageux de maintenir le groupe des intoxications protéiques. Mais nous ajouterons que ces intoxications sont plus ou moins complètes selon la substance considérée; ce que d'ailleurs nous pourrions exprimer en disant que, *parmi les intoxications protéiques, il en est de plus ou moins frustes.*

Notons que les trois propriétés supplémentaires du sérum d'anguille se retrouvent pour *les toxines microbiennes*, ou tout au moins pour certaines d'entre elles. Nous avons déjà indiqué l'action irritative locale de certains liquides de cultures microbiennes et les altérations profondes des tissus qui peuvent en résulter. Nous connaissons des liquides de cultures microbiennes qui sont capables de produire *l'hématolyse* (streptocoques). Nous savons enfin que les toxines, injectées à plusieurs reprises, peuvent parfois engendrer une cachexie progressive, conduisant à la mort. Le sérum d'anguille établit ainsi le passage des protéines toxiques, que nous venons d'étudier, aux toxines microbiennes, plus délicates à manier. Peut-être est-on dès lors autorisé à substituer, au moins provisoirement, l'étude des premières à celle des secondes, pour résoudre les grands problèmes qui se présentent en cet important domaine.

Jusqu'ici nous n'avons utilisé pour les recherches que le chien : il est nécessaire de recourir à quelque autre animal, afin de légitimer, s'il y a lieu, une généralisation de nos résultats, une généralisation qui nous autoriserait à transporter en toxicologie humaine, avec toute la prudence nécessaire d'ailleurs, les conclusions d'études faites en toxicologie canine.

Prenons p. ex. le lapin. Injectons dans ses veines de la peptone à la même concentration et aux mêmes doses relatives que chez le chien (3 décigr. par kgr, en solution à 10 °/₀). Il ne se produit aucun accident : l'animal ne manifeste rien d'anormal ; la pression artérielle ne subit aucun

amoindrissement ; le sang conserve sa coagulabilité normale. *La peptone, très toxique pour le chien, est inoffensive pour le lapin.*

Cette conclusion comporte toutefois une petite réserve : on a en effet provoqué parfois des accidents, extrêmement légers du reste et de durée très courte, en injectant chez le lapin des doses énormes de peptone, des doses au moins 100 fois égales à une dose qui, chez le chien, suffirait pour produire des accidents très graves et de longue durée. Pour tenir compte de ces faits, il vaudrait mieux dire que la peptone très toxique pour le chien est extrêmement peu toxique pour le lapin.

C'est là un très important résultat. Alors que les *poisons chimiques* (glycosides et alcaloïdes p. ex.) sont toxiques pour les diverses espèces d'animaux, ou tout au moins de vertébrés supérieurs, à des doses qui généralement ne diffèrent pas profondément, voici qu'une *protéine toxique* est très toxique pour une espèce (chien) et inoffensive, ou à peu près, pour une autre (lapin).

Nous pouvons exprimer ces faits sous une autre forme : Le chien est *sensible à l'action toxique* de la peptone et le lapin est *réfractaire à cette action,* dirons-nous en employant des termes d'usage courant en bactériologie ; ou encore le lapin présente vis-à-vis de la peptone une *immunité* (*immunité naturelle*), que le chien ne possède pas.

Voilà qui doit retenir notre attention, parce que nous faisons ainsi un premier rapprochement entre *la peptone*, dont l'obtention, la purification relative et l'étude toxicologique sont choses faciles, et *les toxines microbiennes*, plus rebelles à nos manipulations et dont l'étude serait singulièrement facilitée si nous pouvions lui substituer, pour commencer, une étude de *peptotoxie,* nous bornant ensuite à vérifier tout simplement, dans le cas des toxines microbiennes, les conclusions obtenues dans un domaine voisin. Les toxines microbiennes peuvent, comme les peptones, être très toxiques pour les animaux d'une espèce et peu toxiques pour les animaux d'une autre espèce.

Ajoutons encore que la constatation des colossales différences de toxicité de la peptone chez le chien et chez le lapin nous impose l'obligation très stricte, dans nos présentes études, de tenir compte de la façon la plus rigoureuse de l'espèce animale sur laquelle nous expérimentons. *Dans toute question de toxicologie, et plus encore dans*

toute question de protéotoxie, deux éléments fondamentaux interviennent toujours : la substance toxique et l'organisme intoxiqué.

Si on injecte dans les veines du lapin des *extraits d'organes* ou des solutions de *nucléoprotéides,* on provoque des accidents, comme on en provoque chez le chien.

Si la dose n'est pas très considérable, on constate que, très rapidement (1 à 2 min.) après l'injection, *la pression s'abaisse* assez brusquement, se fixe pour un temps variable, suivant la quantité injectée, à une valeur plus ou moins basse, puis remonte lentement et progressivement pour regagner sa valeur normale. En même temps, on note, au moins très souvent, une *modification du rythme de la respiration, qui est accéléré* pendant quelques minutes en général. Enfin, si on retire du sang des artères, soit quelques minutes après l'injection, soit même plus tard (1 et 2 h. p. ex.), on constate que *sa coagulation est toujours tardive,* en tous cas toujours plus tardive que celle du sang d'un lapin normal recueilli dans les mêmes conditions.

La symptomatologie de l'*intoxication nucléoprotéidique* chez le lapin n'est donc pas rigoureusement superposable à la symptomatologie correspondante chez le chien, puisque, chez ce dernier, on ne reconnaît pas d'autre modification respiratoire que la production de quelques respirations profondes mais non précipitées, tandis que, chez le lapin, la respiration s'accélère sans que la profondeur des inspirations soit changée ; — puisqu'aussi, chez le chien, le sang devient incoagulable, tandis que, chez le lapin, il est seulement moins coagulable. Une même intoxication protéique se traduit donc, chez des animaux d'espèces différentes, par une symptomatologie variable.

N'exagérons pourtant pas, et n'oublions pas que, malgré des dissemblances, ces symptomatologies ont des points communs : nous avons noté, p. ex., dans les deux cas, une chute de pression artérielle brusque, profonde, temporaire, disparaissant avec la crise ; nous obtiendrions, dans les deux cas, la mort foudroyante par thrombose du système veineux, si nous injections dans les veines des doses convenables d'extraits d'organes, etc.

Le *sérum d'anguille* enfin est très toxique pour le lapin

comme pour le chien. Injecté dans les veines à faible dose, il provoque une chute de pression artérielle brusque et considérable, une accélération respiratoire si grande qu'on est autorisé à la qualifier de polypnéique, une diminution de la coagulabilité du sang. Ici, comme chez le chien, on peut relever des accidents que ne provoquent pas les extraits d'organes, p. ex. l'hématolyse qui a pour conséquence chez le vivant l'hémoglobinurie, p. ex. encore des mouvements intestinaux intenses se dessinant sous la paroi abdominale en multiples ondulations et déterminant l'expulsion de nombreux bols fécaux, etc. — Injecté à dose plus considérable, le sérum d'anguille produit, chez le lapin, des accidents plus graves, et, pour une dose suffisante, il détermine une mort presque foudroyante (3 à 5 min. après l'injection intraveineuse) : il se produit, dans ce cas, une chute de pression considérable (la pression tombe à quelques mm. de mercure). Dans ce cas d'ailleurs, pas plus qu'à la suite d'injections moins abondantes, on ne relève jamais de coagulations intravasculaires ; le sang présente toujours, quelle que soit la dose de sérum d'anguille injectée dans les veines, un retard de coagulation.

Il existe un assez grand nombre de sérums qui, injectés dans les veines du lapin, déterminent des accidents ; mais ces accidents sont toujours moins graves que ceux que provoque le sérum d'anguille : c'est dire que plusieurs des symptômes de l'intoxication par l'ichtyotoxine sont atténués ou supprimés. Mais ce sont là des différences quantitatives et non vraiment qualitatives : tous ces sérums toxiques appartiennent à une même famille toxicologique.

De cette sommaire revue, concluons que maintes protéines ou maintes liqueurs protéiques sont toxiques pour les animaux (chien et lapin), quand on les injecte dans les veines. Pour les animaux d'une même espèce, toutes ces intoxications ont des caractères communs plus ou moins accentués selon l'espèce de protéine injectée, auxquels s'ajoutent des caractères complémentaires, divers en nature et en grandeur, selon l'espèce de protéine injectée. Pour des animaux d'espèces différentes (chien et lapin p. ex.), ces intoxications présentent encore des caractères communs,

auxquels peuvent s'ajouter des caractères complémentaires selon l'espèce animale sur laquelle on expérimente.

Nous désignerons ces intoxications sous le nom de *protéotoxies* ou d'*intoxications protéiques,* car elles nous apparaissent comme manifestations de la toxicité de certaines substances protéiques.

Les *venins,* en particulier les *venins de serpents,* dont la connaissance est extrêmement intéressante au point de vue toxicologique, comme au point de vue physiologique, méritent de retenir l'attention, en raison des importantes conséquences que comporte leur étude méthodiquement conduite.

L'étude des venins doit se faire au moyen d'injections pratiquées dans les veines ou sous la peau, dans les muscles ou dans le péritoine ; on ne saurait utilement les introduire dans les voies digestives : ils seraient alors inoffensifs, comme sont inoffensives dans les mêmes conditions les protéines toxiques antérieurement examinées.

Nous ne retiendrons ci-dessous que les résultats des injections intraveineuses, parce qu'ils sont plus aisément comparables entre eux ; mais nous notons expressément que d'autres injections, pourvu qu'elles soient parentérales (c'est-à-dire faites par une voie qui n'est pas la voie digestive) produisent ou, au moins, peuvent produire les mêmes accidents.

Les venins sont en général équivalents aux protéines toxiques : les uns déterminent une intoxication qui ne diffère pas fondamentalement des intoxications protéiques antérieurement décrites (*venins protéotoxiques*) ; les autres déterminent une intoxication, très nettement distincte sans doute des intoxications protéiques, mais les différences observées tiennent à ce que l'intoxication protéique qu'ils engendrent est complétée, compliquée, parfois dissimulée par une intoxication supplémentaire, qu'on peut appeler *spécifique* (*venins mixtes*). Les venins sont tous protéotoxiques ; mais quelques-uns ne sont pas exclusivement protéotoxiques.

Parmi les venins protéotoxiques, nous retiendrons ceux

de *Crotalus adamanteus* et de *Vipera Russellii* qui représentent respectivement les deux types de protéines toxiques, les non coagulantes et les coagulantes (nous avons rencontré déjà ces deux types sous la forme des peptones et des extraits d'organes).

Les faits expérimentaux suivants justifient ces rapprochements.

Injectons dans les veines du lapin 1 mgr. (résidu sec de venin évaporé à basse température) de venin de Crotalus adamanteus dissous dans 1 c. c. d'eau salée à 1 °/₀, l'animal présente de 30 à 60 sec. après l'injection un malaise évident : il se couche sur le flanc ; sa respiration est accélérée, parfois même polypnéique. Ces phénomènes sont d'ailleurs de courte durée : le lapin reprend son apparence normale 1/4 d'h. ou 1/2 h. après l'injection, et survit sans présenter d'accidents tardifs.

L'analyse physiologique permet de reconnaître une chute importante de la pression artérielle, se produisant de 30 à 60 sec. après l'injection, amenant la pression aux 2/3 ou à la moitié de sa valeur normale, et disparaissant progressivement, en même temps que l'animal reprend ses coutumières apparences. Le rythme respiratoire est accéléré, mais on ne reconnaît aucune modification importante des caractères des mouvements respiratoires. Le sang extrait des vaisseaux coagule très tardivement.

Si on répète l'injection du venin à la même dose, quelque temps après que la première injection a été faite, alors que la dépression a disparu ou tout ou moins s'est fortement atténuée, on constate qu'il se produit une nouvelle chute de pression, moins considérable du reste que la première.

Ce sont là des symptômes d'intoxication protéique, tels qu'on les note à la suite d'injections d'extraits d'organes ou de sérum d'anguille à petite dose chez le lapin.

Avec des doses plus fortes (3 mgr.) les mêmes phénomènes se produisent, augmentés en intensité et en durée. Avec des doses plus fortes encore (6 mgr.), les accidents débutent de même, mais la chute de pression est plus précoce, plus brusque,plus considérable, et très rapidement la pression tombe à zéro : l'animal meurt ainsi en quelques minutes. Le sang retiré des vaisseaux aussitôt après la mort est liquide et ne coagule qu'avec une extrême lenteur. Ce sont là des accidents déjà notés à la suite de l'injection de sérum d'anguille dans les veines du lapin.

Notons encore une particularité : si la dose injectée est une dose moyenne (4 mgr.), il se produit une dépression assez considérable,

puis la pression remonte progressivement, mais seulement pour un temps ; bientôt elle redescend, pour tomber lentement à zéro : la mort survient ici assez tardivement (1 à 2 h.). C'est là un fait que nous n'avons pas noté avec les diverses protéines toxiques antérieurement étudiées et que nous enregistrons incidemment ; nous en tirerons parti plus tard.

Si les expériences sont faites chez le chien et non chez le lapin, elles donnent des résultats qui sont exactement ceux qu'on obtient en lui injectant des peptones ou du sérum d'anguille. *Le venin de Crobatus adamanteus est donc un venin protéotoxique type sérum d'anguille, c'est-à-dire non coagulant.*

Injectons dans les veines du lapin 1 mgr. de *venin de Vipera Russellii* ou *Daboïa* en solution dans 1 c. c. d'eau salée à 1 °/₀ ; l'animal présente, presque instantanément après l'injection, des convulsions violentes ; sa respiration est dyspnéique ; il pousse quelques cris aigus ; il est mort en quelques minutes. Une chute brusque et considérable de la pression artérielle s'est produite quelques secondes après l'injection. Ce sont là des phénomènes déjà observés à la suite de l'injection intraveineuse de 5 à 6 mgr. de venin de Crotalus adam. ; mais ce qui différencie les deux cas, c'est qu'à l'autopsie des lapins morts intoxiqués par le venin de Vipera Russellii, de volumineux caillots remplissent les gros vaisseaux veineux et les cavités du cœur droit, tandis que le sang est liquide (et même très lentement coagulable) chez les animaux morts d'intoxication par le venin de Crotalus adam.

En fait, il y a, entre ces deux envenimations, la même différence qu'entre l'intoxication par ichtyotoxine et l'intoxication par nucléoprotéide. L'analogie entre les nucléoprotéides et le venin de Daboïa se poursuit d'ailleurs plus loin : si en effet on injecte de petites quantités de ces deux substances, on provoque des accidents légers, qui ne diffèrent pas essentiellement de ceux qu'on note dans l'intoxication obtenue par injection de faibles doses d'ichtyotoxine ou de venin de Crotalus adam. Les effets coagulants ne se produisent pas, et tout au contraire, le sang est devenu lentement coagulable.

Ajoutons que, chez le chien, comme chez le lapin, le venin de Daboïa détermine, suivant la dose injectée, une coagulation intravasculaire produisant une mort foudroyante (fortes doses), ou l'incoagulabilité du sang (faibles dores) ; d'une façon générale, il se comporte encore, chez le chien, en tout et pour tout comme un extrait d'organe.

Il n'est pas jusqu'aux expériences in vitro qui ne justifient ce rapprochement : le sang épanché des vaisseaux voit sa coagulabilité fort augmentée quand on le mélange soit avec du venin de Daboïa, soit avec un extrait d'organe, et l'analyse du phénomène permet de re-

connaître que, dans les deux cas, il relève d'un même mécanisme.

Le venin de Vipera Russellii est donc protéotoxique, type extrait d'organe.

Les deux venins de Crotalus adam. et de Vipera Russellii engendrent ainsi des accidents qui sont l'image de ceux que nous avons provoqués, chez le lapin et chez le chien, par injection de protéines toxiques. Les deux envenimations correspondantes sont ainsi des *protéotoxies*.

Et l'on pourrait, si ce n'était inutile, insister sur la légitimité de ce rapprochement, en notant que ces deux venins sont *hématolytiques* comme le sérum d'anguille, et qu'injectés sous la peau ou dans les muscles à une concentration suffisante, ils déterminent les mêmes *nécroses* et altérations profondes que ce sérum.

A côté des venins exclusivement protéotoxiques, et notamment à côté du venin de Crotalus adam., on placera le venin de Vipera aspis, qui se comporte exactement comme lui, au moins en ce qui concerne les faits ci-dessus retenus ; — et le venin d'abeilles, dont l'injection intraveineuse provoque la même dépression artérielle, la même accélération respiratoire, le même retard de coagulation du sang, que le venin de Crotalus adam. ; et en outre une exagération considérable des mouvements intestinaux, avec expulsion de bols fécaux, déjà constatée dans l'intoxication par sérum d'anguille, chez le lapin.

Parmi les venins mixtes, à la fois protéotoxiques et spécifiques, nous considérerons plusieurs types : d'abord le *venin de Naja tripudians* ou *Cobra* et des espèces voisines, puis les *venins de Lacheris lanceolatus* ou *Bothrops* et de *Crotalus terrificus* ou *Cascavel* et de nombreuses espèces voisines. Tous ces venins ont des propriétés protéotoxiques, tantôt légères et difficiles à manifester, tantôt très accentuées ; en outre, ils possèdent des *propriétés spécifiques*, souvent remarquables, que ne possèdent jamais les protéines toxiques proprement dites.

Les *venins des Najas*, des *Bungares* et des genres voisins sont *protéotoxiques type sérum d'anguille* et *curarisants*, c'est-à-dire aptes à provoquer, comme le curare, une

paralysie généralisée d'origine périphérique (par suppression des rapports fonctionnels normaux entre le nerf moteur et le muscle au niveau de la plaque terminale).

Injectons dans les veines du lapin 2 mgr. (d'extrait sec) de venin de Naja tripudians ou Cobra, dissous dans 2 c. c. d'eau salée à 1 °/₀ : la pression artérielle fléchit un peu dans les minutes suivant l'injection ; la respiration s'accélère un peu ; le sang est devenu beaucoup moins coagulable qu'il n'était. Sans doute, la dépression est faible (10 mm. alors qu'elle était de 40 à 50 mm., à la suite de l'injection de la même dose de venin de Crotalus adam.), et peu durable (5 à 6 min. au lieu de 1 h.), l'accélération respiratoire est modérée (le rythme passe p. ex. de 50 à 60 ; il passait de 50 à 200 et plus dans l'intoxication crotalique) et passagère (2 à 3 min. au lieu de 15 à 20) ; seule la diminution de coagulabilité du sang est considérable. Mais pourtant, et c'est l'essentiel, qualitativement les faits protéotoxiques sont là. On peut d'ailleurs les exagérer, autant qu'on le désire, en augmentant la dose du venin injecté.

Également protéotoxiques sont les venins des serpents appartenant aux genres Naja, Bungarus, etc. Une seule exception est à signaler : le *venin de Naja Haje ou Cobra égyptien*, injecté dans les veines du lapin, même aux doses de 8 à 10 mgr. ne produit ni dépression même minime, ni accélération respiratoire même faible ; il détermine seulement un retard de coagulation du sang.

Toutefois ces intéressants phénomènes ne représentent qu'une fraction de la symptomatologie de la *cobraïsation*. Après les avoir notés et interprétés, revenons à l'examen de ce lapin dans les veines duquel ont été injectés 2 mgr. de venin de Cobra.

Après une période d'incubation de 10 min. environ, pendant laquelle l'animal semble à peu près normal (les accidents protéotoxiques très faibles ne sont révélés que par une analyse physiologique délicate), apparaissent les accidents véritablement graves. Ce sont d'abord des troubles respiratoires (ralentissement progressif du rythme et augmentation progressive de l'amplitude, c'est-à-dire dyspnée), auxquels s'ajoutent, quelques minutes plus tard, des troubles circulatoires (ralentissement considérable du rythme du cœur, élévation de la pression artérielle et augmentation de son élément variable, suivie d'une chute progressive de la pression). La respiration s'arrête 20 min. après l'injection ; le cœur cesse d'être perceptible 4 ou 5 min. plus tard. Dans la période comprise entre l'arrêt de la respiration et l'arrêt du cœur, on note quelques secousses musculaires généralisées plus ou moins nettes.

Pour des doses plus ou moins grandes de venin de Cobra, comprises entre 1/2 mgr. et 6 à 8 mgr., les manifestations toxiques sont

les mêmes ; mais d'une part les faits protéotoxiques et notamment la dépression sont exagérés, et d'autre part l'évolution des accidents spécifiques est accélérée, c'est-à-dire que la période d'incubation est raccourcie et que l'arrêt respiratoire est prématuré. Si on compare les conséquences de l'injection de 2 et de 4 mgr. de venin de Cobra, on trouve pour la grandeur de la dépression 10 et 30 mm. de mercure ; pour la durée de la période d'incubation 10 et 6 min., pour le moment de l'apparition des troubles circulatoires 12 à 16 et 7 à 8 min. ; pour l'arrêt respiratoire 18 et 12, etc.

Ces manifestations de la *cobraïsation* (en n'y faisant point rentrer les accidents protéotoxiques) sont celles-là même qu'on observe dans la *curarisation*. Comme le curare provoque les accidents et la mort par suite de la paralysie périphérique qu'il engendre en séparant fonctionnellement le nerf moteur du muscle, au niveau de la plaque terminale, on peut supposer que le venin de cobra provoque les mêmes modifications et troubles, et que curarisation et cobraïsation sont des intoxications symptomatologiquement surperposables.

On justifie expérimentalement cette conception. Dans la curarisation et dans la cobraïsation, l'excitation du nerf moteur ne détermine plus la contraction du muscle dans lequel il se rend, ce muscle réagissant d'ailleurs, comme le ferait un muscle normal, aux excitations directement portées sur lui. Dans la curarisation et dans la cobraïsation, la motricité seule est supprimée, la sensibilité persiste ; on le démontre, dans les deux cas, par des expériences identiques. Dans la curarisation et dans la cobraïsation, les nerfs glandulaires, vasculaires, cardiaques conservent leurs activités normales. Dans la curarisation et dans la cobraïsation (au moins quand le venin est du venin de Naja tripudians et que la quantité injectée ne dépasse pas 2 mgr. [1]), on peut parer aux phénomènes d'asphyxie en pratiquant la respiration artificielle. Enfin, on peut, en injectant à la fois dans l'organisme d'un animal (lapin p. ex.) du venin de Cobra et du curare à doses convenablement choisies, démontrer que ces deux substances ajoutent arithmétiquement leurs actions, comme si elles agissaient de la même façon sur les mêmes éléments anatomiques.

1. Cette réserve est imposée par les résultats d'observations faites sur des lapins ayant reçu en injection intraveineuse soit du venin de Naja tripudians à doses égales ou supérieures à 2mgr. 1/2, soit du venin de serpents d'espèces voisines (Naja bungarus, Bungarus cœruleus) : on a reconnu qu'alors la respiration artificielle ne maintient la vie que pendant quelque temps ; la pression artérielle baisse progressivement, conduisant l'animal à la mort en 1 à 2 h. Rappelons que cette dépression progressive tardive a été notée ci-dessus à la suite de l'injection de venin de Crotalus adamanteus à la dose de 5 à 6 mgr.

Le venin de Cobra est donc un curare. Il ne diffère du curare authentique que par de menus détails. Et d'abord parce qu'il est faiblement protéotoxique tandis que le curare ne l'est pas ; et ensuite parce que l'injection intraveineuse de venin de Cobra ne fait apparaître le ralentissement respiratoire, premier symptôme de la paralysie qu'après une période d'incubation de quelques minutes tout au moins, tandis que l'injection intraveineuse de curare déclenche presque instantanément ces accidents.

Peut-être convient-il d'ajouter encore que le curare supporte l'ébullition sans subir de diminution de toxicité, tandis que le venin de Cobra perd son activité à 100° et même à une température inférieure.

Nous plaçons le venin de Cobra dans le groupe des venins protéotoxiques curarisants et, ajouterons-nous, dans la variété type sérum d'anguille, parce qu'ainsi que ce dernier il ne provoque jamais de coagulation intravasculaire. Nous ne l'assimilerons pourtant pas de façon absolue au sérum d'anguille, parce que ce sérum n'exerce une action anticoagulante que s'il est injecté dans les veines de l'animal vivant, tandis que le venin de Cobra exerce son action anticoagulante in vivo et in vitro (le sang extrait des vaisseaux et mélangé à du venin de Cobra ne coagule pas ou ne coagule que très tardivement).

Nous avons noté tous ces détails pour les utiliser ci-dessous.

— En face de ces venins curarisants et protéotoxiques type sérum d'anguille, nous placerons des venins qui sont à la fois *curarisants* comme les précédents, et *protéotoxiques type extrait d'organe* (ou type venin de Daboïa), c'est-à-dire coagulants in vivo (si la dose injectée est suffisante) et in vitro. Ce sont des venins fournis par le *serpent noir* et par le *serpent tigre d'Australie*. Ces venins sont au venin de Cobra ce que le venin de Daboïa est au venin de Crotalus adam., ce que les extraits d'organes sont au sérum d'anguille.

Injectés dans les veines du lapin à dose minime (1/10 mgr. et même moins suffit), ils provoquent une thrombose généralisée, instantanément mortelle. Ajoutés au sang qui coule de l'artère dans un verre, ils en accélèrent la coagulation, comme le feraient le venin de Daboïa ou les extraits d'organes et par le même mécanisme. Injectés dans les vaisseaux dans des conditions où la coagulation ne se fait pas (et qu'il n'est pas utile d'indiquer ici), ils engendrent des phénomènes protéotoxiques très modérés et une curarisation typique.

— Les venins de *Lachesis lanceolatus* (*Trigonocéphale* ou *Bothrops*) et de *Crotalus terrificus* (*Cascavel*), ainsi que les venins de nombreux *Lachesis* et *Crotalus* sont à la fois protéotoxiques et *coagulants type thrombine* (nous entendons par là que, comme la thrombine, ils sont capables de déterminer la coagulation fibrineuse de toutes les liqueurs fibrinogénées). Cette propriété thrombine est spécifique et non protéotoxique, parce qu'aucune protéine toxique ne la présente.

Injectons dans les veines du lapin du *venin de Bothrops* ou du *venin de Cascavel* à faible dose (moins de 1/4 mgr.), nous reconnaissons les accidents protéotoxiques (chute de pression, accélération respiratoire, retard de coagulation du sang). Injectons-les à dose plus forte (1 mgr. p. ex.), nous notons instantanément des convulsions et des cris; la respiration est profonde, asphyxique; la mort survient en quelques minutes; à l'autopsie de volumineux caillots remplissent les grosses veines et le cœur droit; l'animal est mort par thrombose généralisée.

Ce sont là, semble-t-il, les propriétés du venin de Vipera Russellii, telles que nous les avons rapportées. Il y a pourtant entre eux une différence capitale. Le venin de Vipera Russellii accélère in vitro la coagulation du sang arrivant de l'artère dans un verre; mais il ne fait pas coaguler les liqueurs fibrinogénées non spontanément coagulables (sang ou plasma de peptone, sang ou plasma oxalaté, fluoré, citrate, solution chlorurée sodique de fibrinogène, liquide d'hydrocèle, etc.); il n'est donc pas équivalent à la thrombine qui provoque la coagulation fibrineuse de toutes ces liqueurs. Les venins de Bothrops et de Cascavel accélèrent également in vitro la coagulation du sang qui coule de l'artère, mais ils font encore coaguler les liqueurs fibrinogénées non spontanément coagulables, comme le ferait une solution de thrombine (p. ex. du sérum sanguin fraîchement préparé, ou une liqueur renfermant son principe coagulant).

Nous ajouterons que le venin de Crotalus adam., que nous avons pris ci-dessus comme type des venins exclusivement protéotoxiques est en réalité protéotoxique et coagulant type thrombine; mais cette dernière qualité est très peu développée, si peu développée que lorsqu'on l'injecte dans les veines, il ne provoque jamais de coagulation intravasculaire; on ne peut la manifester qu'in vitro, en provoquant la coagulation fibrineuse d'une liqueur fibrinogénée non spontanément coagulable par addition d'un peu de ce venin.

Il était utile de signaler ce petit fait, car il eut pu paraître étrange

que des venins provenant d'espèces zoologiquement aussi semblables que sont le Crotalus adamanteus et le Crotalus terrificus fussent si catégoriquement dissemblables. En réalité, ils ne diffèrent pas qualitativement, mais seulement quantitativement. L'analyse toxicologique et la classification zoologique ne sont pas en conflit en cette affaire.

On pourrait signaler encore d'autres catégories de venins mixtes, mais à quoi bon ?

CHAPITRE VIII

L'IMMUNITÉ ANTITOXIQUE

SOMMAIRE. — Immunité antitoxique naturelle, absolue, relative, conditionnelle. — Exemples et précisions : intoxication peptonique du chien et immunité peptonique du lapin ; sérum d'anguille et hérisson ; venin de vipère, hérisson et mangouste ; toxine diphtérique et rat, toxine tétanique et poule. — Remarques d'un caractère général. — Du mécanisme de l'immunité naturelle antitoxique. — Etude de trois hypothèses : la toxine est-elle détruite par les humeurs, examen de quelques cas ; la toxine est-elle indifférente pour les éléments anatomiques, examen de quelques toxines hématolytiques ; la toxine est-elle retenue loin des éléments sensibles : poule et toxine tétanique. — La solution des problèmes d'immunité naturelle antitoxique doit être établie pour chaque cas.

Immunisation contre les toxines : immunité acquise. — Immunisation par injections répétées de doses non mortelles de toxine : sérum d'anguille, venin de Cobra, toxines tétanique et diphtérique. — Spécificité de l'immunisation ; exceptions. — De l'excellence des venins curarisants pour les études d'immunisation. — De la nécessité de substituer à la méthode d'immunisation par les toxines naturelles une autre méthode pour obtenir une immunisation plus forte. — Méthode des toxines modifiées par la chaleur : immunisation antitétanique. — Méthode des toxines atténuées par les substances chimiques : immunisations antidiphtérique et antivenimeuse. — Méthode des toxines-antitoxines. — De la longue durée de l'immunité. — Des immunisations mixtes. — Quel est le mécanisme de l'immunité acquise ? — L'immunité est-elle cellulaire ou humorale ? — Le sérum antitoxique : immunisations antitétanique, antidiphtérique, anticobraïque ; les humeurs antitoxiques. — Existe-t-il une immunité cellulaire acquise à côté de l'immunité humorale acquise ? — Attendons une bonne démonstration. — Quelques définitions : les antigènes et les anticorps ; les immunsérums et les animaux immuns.

Les substances toxiques précédemment considérées, *toxines microbiennes, protéines toxiques* et *venins*, que pour simplifier nous appellerons *toxines*, ne provoquent pas

toujours et nécessairement des intoxications chez tous les animaux. Il est telle espèce animale, pour laquelle *telle toxine est inoffensive* ; il en est telle autre, pour laquelle *telle autre toxine est faiblement offensive,* c'est-à-dire ne produit d'accidents que pour des doses, 10 fois, 100 fois, 1000 fois supérieures à celles qui suffisent pour engendrer des désordres graves et la mort chez la plupart des animaux. Dans le premier cas, l'animal est *totalement réfractaire* à l'action de la toxine, ou, comme on dit encore, l'animal possède une *immunité absolue* vis-à-vis de la toxine ; dans le second cas, l'animal est *peu sensible à l'action de la toxine,* ou comme on dit encore, l'animal possède une *immunité relative ou partielle* vis-à-vis de la toxine. Enfin, telle espèce animale peut être à la fois sensible ou insensible à l'action d'une toxine, selon que celle-ci a été inoculée en telle ou telle région de l'organisme, selon que l'animal est jeune ou adulte, selon que les conditions physiologiques dans lesquelles il se trouve sont celles-ci ou celles-là. On pourrait parler ici d'*immunité conditionnelle,* c'est-à-dire se manifestant dans des conditions déterminées, et non pas dans toutes conditions, comme c'était le cas pour l'immunité absolue ou l'immunité relative de tout à l'heure. Ces trois immunités du reste sont dites *immunités naturelles*, et en les désignant ainsi, on entend marquer qu'elles existent chez l'animal tel qu'il est dans l'état de la nature, c'est-à-dire sans avoir subi aucune préparation, sans avoir été soumis à aucun traitement, sans avoir été antérieurement intoxiqué par la toxine considérée.

Et maintenant, des *exemples* et des *précisions*.

L'injection intraveineuse de *peptone* pratiquée chez le *chien,* à la dose de 10 cgr. par kgr. détermine un ensemble d'accidents (accidents d'intoxication peptonique), chute de pression artérielle, incoagulabilité du sang, état comateux, etc., tous phénomènes transitoires, qui ne tardent pas à s'atténuer et à disparaître progressivement et totalement. Or si on injecte *dans les veines du lapin* des doses de peptone 10, 50, 100 fois plus considérables, on ne provoque aucun des accidents de l'intoxication peptonique du chien, ni aucun autre d'ailleurs. *Le lapin est réfractaire à l'intoxication peptonique ; il possède une immunité naturelle vis-à-vis de la peptone.* Cette immunité est-

elle absolue au sens strict du mot, il serait peut-être imprudent de l'affirmer, quelques expérimentateurs ayant observé des troubles après avoir injecté des doses colossales de peptone chez le lapin ; mais les quantités supportées par le lapin sans en souffrir sont si grandes par rapport à celles qui provoquent des accidents graves chez le chien, qu'on est autorisé à parler ici d'une immunité absolue.

Le *sérum d'anguille,* injecté dans les veines de *cobayes* de 400 gr. les tue en 10 min. environ à la dose de 0 c. c. 005. Injecté dans les veines du *lapin* ou du *chien* à doses équivalentes (mêmes doses pour 1 kgr. d'animal), il détermine encore une mort précoce. Par contre, pour tuer un *hérisson* de 500 à 600 gr., il en faut employer 0 c. c. 1, c'est-à-dire 20 fois la dose mortelle pour le cobaye ; et encore, avec cette dose, la mort ne se produit-elle qu'après plusieurs heures. *Le hérisson présente* donc *une immunité relative vis-à-vis du sérum d'anguille* ; et, malgré que la dose mortelle pour lui ne soit pas très considérable (0 c. c. 1), nous dirons que le hérisson est peu sensible à l'action toxique de ce sérum d'anguille, parce que la dose mortelle pour lui est très notablement plus grande que la dose mortelle pour la plupart des animaux.

Le *hérisson* présente encore une *immunité relative vis-à-vis du venin de vipère* : ce venin peut le tuer, à dose suffisante, mais la dose minima mortelle est 40 à 50 fois supérieure à la dose minima mortelle pour le cobaye, et plus généralement pour les animaux d'expérience (lapin, chien, etc.), en tenant compte du poids de l'animal. La *mangouste des Antilles* présenterait une *immunité relative,* considérable du reste, vis-à-vis du venin de plusieurs espèces de serpents.

Le *rat* et la *souris* résistent, sans présenter d'accidents, à l'inoculation sous-cutanée, intramusculaire ou intrapéritonéale de doses considérables de *toxine diphtérique*, suffisantes pour tuer plusieurs dizaines de *cobayes* (si l'on tenait compte des poids, il faudrait 1000 fois plus de toxine pour tuer 1 kgr. de souris que pour tuer 1 kgr. de cobaye).

La *poule* résiste vigoureusement à la *toxine tétanique.* Sans doute, on peut, en injectant des doses énormes sous la peau ou dans les muscles, provoquer chez elle un tétanos typique et mortel, mais les doses nécessaires pour y réussir sont incomparablement plus grandes que celles qui suffisent à tuer un même poids de souris ou de cobaye. La très forte immunité relative de la poule vis-à-vis de la toxine tétanique peut d'ailleurs être diminuée dans des conditions choisies : p. ex. une poule refroidie devient tétanique à la suite de l'inoculation de doses inoffensives pour la poule non refroidie ; p. ex. encore l'inoculation intracérébrale d'une quantité modérée de toxine tétanique suffit à engendrer le tétanos chez la poule, alors qu'elle résisterait à l'inoculation sous-cutanée ou intramusculaire de doses 100 fois plus considérables. C'est là un exemple d'*immunité conditionnelle.*

Il n'y a pas d'espèces animales très sensibles à l'action des toxines en général, ou peu sensibles, ou insensibles. *Une espèce peut être réfractaire vis-à-vis d'une toxine et éminemment sensible vis-à-vis d'une autre :* la souris, p. ex., est réfractaire à la toxine diphtérique et présente une exquise sensibilité à la toxine tétanique. L'observation et l'expérience permettent seules de fixer ces sensibilités spécifiques dans chaque cas particulier : les séries rangées par ordre de sensibilité croissante ou décroissante pour les diverses toxines présentent le plus *effarant désordre.*

Quelle est la raison de cette immunité naturelle antitoxique, absolue, relative ou conditionnelle ? *Trois hypothèses* se présentent à l'esprit. Ou bien la toxine inoculée est détruite ou atténuée par quelque substance contenue dans le sang ou les humeurs de l'animal réfractaire, comme un acide est supprimé ou atténué par une base à laquelle il s'unit pour former un sel, ou encore comme une matière colorante est enlevée par le noir animal auquel elle adhère solidement, etc. Ou bien la toxine n'est pas détruite dans l'organisme, mais elle n'est pas capable, chez l'animal réfractaire, d'agir, pour les modifier ou troubler leur fonctionnement, sur ces éléments anatomiques qu'elle lèse ou dévie chez l'animal sensible. Ou enfin la toxine, non détruite dans l'organisme, n'arrive pas, chez l'animal réfractaire, au contact des éléments anatomiques, qu'elle atteint et impressionne chez l'animal sensible.

La première hypothèse — *destruction de la toxine par quelque substance contenue dans les humeurs* — ne se vérifie pas.

Le *rat* est réfractaire à la *toxine diphtérique.* Mélangeons, en proportions déterminées, de la toxine diphtérique avec du sang défibriné ou du sérum de rat, ou de la toxine diphtérique avec de l'eau salée, et injectons des volumes égaux de ces deux mélanges respectivement à deux cobayes : les accidents engendrés sont identiques quant à leur gravité, leur évolution, leur durée, leur terminaison. Le sang ou le sérum du rat ne contiennent pas d'antitoxine diphtérique.

La *poule* est réfractaire à la *toxine tétanique,* au moins dans les conditions de vie normale. Préparons des mélanges en proportions déterminées de toxine tétanique et de sang défibriné, ou de sérum de poule, ou de toxine tétanique et d'eau salée, et injectons-en des

volumes égaux à deux cobayes : ces animaux présentent des accidents identiques, débutant, évoluant et conduisant à la mort simultanément. Les humeurs de la poule ne sont donc pas antitétaniques.

Sans doute, on a signalé des cas où un observateur superficiel conclura peut-être que les humeurs des animaux réfractaires ou peu sensibles sont antitoxiques ; mais on peut démontrer, dans ces cas, que cette propriété ne saurait rendre compte de l'immunité de l'animal réfractaire. Le *hérisson* est peu sensible au *venin de vipère* ; son sang mélangé à ce venin en atténue quelque peu la toxicité pour le rat, le lapin, etc., sans doute ; mais le sérum de cheval ou de cobaye atténuent tout autant le venin de vipère pour le rat et le lapin, et pourtant cheval et cobaye sont très sensibles à l'action de ce venin.

Le plus souvent les humeurs des animaux réfractaires aux toxines ne sont pas antitoxiques. Dans les cas exceptionnels où elles le sont quelque peu, cette propriété antitoxique ne suffit pas à rendre compte de l'immunité de l'animal réfractaire. La première hypothèse doit être écartée.

Dans notre deuxième hypothèse, nous avons supposé que *la toxine n'est pas détruite*, mais qu'*elle n'exerce pas d'action*, chez l'animal réfractaire, *sur tel élément anatomique* qu'elle altère chez l'animal sensible. Cette hypothèse se vérifie, au moins dans certains cas.

On connaît une toxine provenant d'*araignée*, et qu'on appelle *arachnolysine*, capable d'hématolyser les *globules rouges du lapin*, mais inoffensive pour les *globules rouges du cobaye*. Or les globules rouges du lapin la fixent et la retiennent si bien que le liquide perd peu à peu son pouvoir hématolytique pour d'autres hématies sensibles à l'arachnolysine ; tandis que les globules rouges du cobaye ne la fixent pas et la laissent dans le milieu, apte à exercer son action hématolytique sur des globules rouges sensibles.

Le *sérum d'anguille* est hématolytique pour les *globules du cobaye* ; il ne l'est pas pour les *globules de grenouille* ; on peut encore ici démontrer que les globules du cobaye fixent l'hématolysine, tandis que les globules de la grenouille ne la fixent pas.

Et l'on pourrait multiplier les exemples.

Donc, dans certains cas tout au moins, l'*immunité*

antitoxique semble résulter de ce que le poison ne présente pas d'affinité (ne spécifions pas s'il s'agit d'affinité chimique, c'est-à-dire de combinaison, ou d'affinité physique, c'est-à-dire de simple fixation) *pour les éléments de l'animal réfractaire,* tandis qu'il en présente pour ceux de l'animal sensible.

Mais il serait imprudent d'imaginer que c'est là la règle générale qui préside à l'immunité antitoxique, et d'en conclure que la troisième hypothèse n'a pas besoin d'être examinée, et peut, sans plus ample informé, être écartée. Documentons-nous.

La *poule* est réfractaire à la *toxine tétanique*. Or, après inoculation sous-cutanée, intramusculaire ou intrapéritonéale de cette toxine, on la trouve dans le sang circulant (car le sang inoculé à des animaux sensibles au tétanos en fait apparaître les manifestations), et malgré que le sang irrigue les éléments du système nerveux central, le tétanos n'éclate pas chez la poule, dans les conditions ordinaires de vie. Si on avait injecté la toxine tétanique directement dans l'épaisseur de l'encéphale de la poule, le tétanos se fût développé avec ses caractères et sa gravité typiques, même si la dose injectée avait été faible. Il en faut conclure que la toxine contenue dans le sang ne le quitte pas pour passer sur les éléments nerveux. La toxine d'ailleurs, malgré qu'elle soit dans le sang, ne se trouve pas dans les divers tissus de la poule (supposés débarrassés de leur sang) sauf en petite quantité dans les glandes sexuelles, ovaires ou testicules. Voilà les faits. Deux hypothèses se présentent à l'esprit : *ou bien la paroi capillaire est imperméable à la toxine, ou bien le sang renferme quelque élément possédant pour cette toxine une puissance de fixation plus grande que les tissus en général, le tissu nerveux en particulier*. La première hypothèse doit être écartée puisque les tissus ovarien et testiculaire contiennent de la toxine venant nécessairement du sang. La seconde hypothèse paraît au moins acceptable ; les tissus testiculaire et ovarien seuls auraient un pouvoir d'attraction pour la toxine tétanique plus grand que le sang, chez la poule. Ne considérons pourtant ces données que comme de premières indications ; il faudrait expliquer en effet pourquoi le sang perd cette affinité majeure chez la poule refroidie, qui prend le tétanos à la suite de l'injection intrapéritonéale ou sous-cutanée de toxine tétanique.

Des trois hypothèses que nous avions envisagées, l'une nous a paru inadmissible (au moins dans les cas et condi-

tions dans lesquels nous avons cherché à en fixer la valeur, ce qui ne veut pas dire qu'on ne trouvera pas quelque jour un fait capable de la justifier. au moins dans un ou dans quelques cas) ; les deux autres nous ont paru exactes parfois tout au moins, l'une dans un cas, l'autre dans un autre cas, mais elles ne sont pourtant pas exactes dans tous les cas.

C'est dire que l'*immunité naturelle antitoxique ne relève pas d'un seul et même mécanisme* ; par conséquent, quand on se proposera de résoudre un problème d'immunité naturelle antitoxique, il conviendra de l'examiner minutieusement en lui-même, en s'éclairant sans doute des résultats acquis dans ce domaine, mais en se gardant bien de ranger à priori et avant toute expérience le nouveau cas dans une catégorie ou dans une autre.

L'état de nos connaissances, très réduit, sur l'immunité naturelle antitoxique ne permet pas de donner plus de précisions.

On possède des méthodes de traitement des animaux sensibles aux toxines, qui permettent de les rendre plus ou moins fortement *réfractaires* à leur action, qui leur confèrent l'*immunité vis-à-vis de ces toxines,* ou, pour préciser, vis-à-vis d'une quantité plus ou moins considérable de ces toxines. Une telle immunité, engendrée chez un animal naturellement sensible à la toxine est dite *immunité acquise,* et ainsi la distingue-t-on de l'immunité naturelle dont nous venons de parler.

On a pu immuniser le *lapin* contre plusieurs doses mortelles de *sérum d'anguille*, inoculées dans les veines, en pratiquant une série d'injections intraveineuses de ce même sérum à doses progressivement croissantes, en commençant par des doses notablement inférieures aux doses minima mortelles.

La dose minima mortelle de sérum d'anguille en injection intraveineuse, pour un lapin de 2 kgr. est de 20 cgr. Injectons dans les veines d'un lapin 2 cgr. de sérum d'anguille, puis 2 ou 3 jours plus tard 4 cgr. et ainsi de suite, de 3 jours en 3 jours, en augmentant

chaque fois la dose injectée de 2 cgr. A la 10e injection, on inocule 20 cgr. de sérum, c'est-à-dire la dose mortelle pour un lapin neuf : il ne se produit pas d'accidents. On peut continuer la préparation en augmentant chaque fois la dernière dose injectée de 5 cgr., puis 10 cgr. On arrive ainsi fort bien à faire supporter au lapin 20 fois la dose mortelle de sérum d'anguille sans qu'il manifeste aucun accident.

On a obtenu des résultats équivalents en injectant sous la peau de *lapins* des solutions diluées de *venins* : une série d'injections, répétées à quelques jours d'intervalle, permet d'immuniser l'animal contre plusieurs doses mortelles du venin.

La dose minima mortelle de venin de cobra en injection intraveineuse pour un lapin de 2 kgr. est d'environ 1/4 mgr. Injectons dans les veines d'un lapin 1/5 mgr. de venin en solution à 1 pour 10 000 dans l'eau salée (2 c. c.), et renouvelons cette injection sans changement de 4 jours en 4 jours. On peut, une semaine après la 8e injection préparatoire, introduire dans les veines 3 mgr. de venin de cobra, sans provoquer d'accidents paralytiques, même légers. Or ces 3 mgr. représentent 12 doses mortelles pour le lapin neuf ; ils eussent déterminé, chez le lapin neuf, l'arrêt respiratoire en 12 à 14 minutes.

On a obtenu des résultats équivalents en injectant sous la peau de *lapins*, de *cobayes*, de *chiens*, de *chevaux*, etc., de très petites doses des *toxines tétanique ou diphtérique*, des doses notablement inférieures à la dose minima mortelle, et en répétant de telles injections à plusieurs jours d'intervalle pendant quelques semaines. On a par là réalisé une immunité très nette, car les animaux ainsi traités peuvent supporter l'inoculation de plusieurs doses mortelles pour l'animal neuf.

La méthode, dont nous venons de fournir trois exemples, et qui consiste à injecter à maintes reprises des doses de toxine inférieures à la dose mortelle, présente un caractère général. Elle conduit à l'établissement d'une immunité incontestable, mais relative, car on peut toujours, chez les animaux ainsi préparés, provoquer les accidents typiques et la mort, en injectant un certain nombre de doses mortelles pour l'animal neuf.

L'*immunité* ainsi créée *est spécifique*, c'est-à-dire que

l'animal préparé ne présente d'immunité que pour la toxine ayant servi à sa préparation. Voici des faits.

Dans les veines d'un *lapin* immunisé contre plusieurs doses mortelles de *sérum d'anguille,* injectons la dose minima mortelle de *sérum de torpille* (ce sérum produit les mêmes accidents que le sérum d'anguille, mais, à volume égal, il est moins toxique que le sérum d'anguille), les accidents se développent et la mort se produit comme si l'injection avait été faite sur un lapin neuf. Inversement, dans les veines d'un lapin immunisé contre plusieurs doses mortelles de sérum de torpille, injectons la dose minima mortelle de sérum d'anguille, les accidents et la mort se produisent comme si l'animal était neuf. Il n'y a pas *immunité croisée.*

Si on traite par plusieurs injections sous-cutanées, espacées de 4 à 5 jours, correspondant à des doses non mortelles de venin de serpent-tigre (venin curarisant) des lapins, on constate que ces animaux sont immunisés contre plusieurs doses mortelles de venin de serpent-tigre, mais qu'ils ne présentent aucune immunité contre le venin de cobra (également curarisant).

Ne considérons pourtant pas cette spécificité comme absolument rigoureuse. On note des *exceptions à cette loi de spécificité*, qui correspondent aux cas où la toxine de préparation et la toxine d'essai présentent des similitudes, comme il arrive quand les deux produits dérivent d'animaux appartenant à des espèces zoologiquement voisines. Dans ce cas d'ailleurs, l'immunité acquise est toujours plus grande vis-à-vis de la toxine de préparation.

Si, dans les veines de lapins immunisés contre le *sérum d'anguille* (et qui ne le sont pas vis-à-vis du sérum de torpille), nous injectons 1 ou 2 doses mortelles pour le lapin neuf de *sérum de congre* (poisson zoologiquement très voisin de l'anguille), on constate que l'animal survit sans présenter généralement d'accidents. Mais ces lapins, qui supportent l'inoculation de 20 doses mortelles de sérum d'anguille, meurent si on leur injecte 3 doses mortelles de sérum de congre.

Le lapin immunisé contre l'injection intraveineuse de 8 à 10 doses mortelles de *venin de cobra* possède une légère immunité contre l'injection de venins d'espèces voisines, *Naja Haje, Bungarus fasciatus, Naja bungarus,* etc., mais cette *immunité hétérologue* est moindre que l'*immunité homologue* : elle correspond p. ex. à 2 doses mortelles, tandis que l'immunité homologue correspondait à 8 ou 10 doses.

Ne possédant pas pour les toxines microbiennes de données positives nettes et claires comme celles que nous possédons pour les sérums toxiques et pour les venins, au point de vue de la spécificité de l'immunité acquise, nous admettons que nos résultats sont valables pour les toxines microbiennes. A coup sûr, l'immunité antitétanique ne protège point l'animal qui la possède contre la toxine diphtérique et inversement ; mais il s'agit là de toxines profondément dissemblables, ne produisant pas les mêmes troubles physiologiques et n'agissant pas sur les mêmes éléments anatomiques. Il serait intéressant, et sans doute important, de rechercher si des toxines pathologiquement équivalentes, provenant de microbes appartenant à des espèces distinctes (nous disons espèces, non variétés), engendrent des immunités spécifiques. Et, sur ce point, nous ne sommes pas documentés : les divers bacilles diphtériques décrits sont-ils variétés ou espèces distinctes ? Nous l'ignorons.

Une digression. — Les venins curarisants sont un merveilleux instrument d'études dans les questions d'immunité, en raison de la *régularité mathématique* de leur action, sur le lapin tout au moins. Voici un échantillon de venin de cobra sec ; dissolvons-en 2 mgr. dans 2 c. c. d'eau salée à 1 °/₀ et injectons dans les veines d'un lapin de 2 à 2 kgr. 1/2. L'arrêt respiratoire se produit régulièrement 18 min. (nombres extrêmes 17 et 19) après l'injection, et l'arrêt cardiaque 22 min. (nombres extrêmes 21 et 23) après l'injection. Ces nombres peuvent d'ailleurs varier d'un échantillon de venin à un autre ; mais, pour un échantillon donné, les résultats présentent toujours cette exactitude.

Nous avons noté que 8 injections de 1/5 mgr. de venin de cobra, pratiquées sous la peau du lapin, l'immunisent contre 3 mgr. de venin. Or la quantité totale injecté n'est que de 1 mgr. 6. Donc une quantité donnée du venin immunise contre une quantité plus grande (au moins quand il s'agit de venin de cobra, quand les essais sont faits chez le lapin, quand sont réalisées les conditions dans lesquelles nous avons expérimenté). Assurément il est plus facile de préciser ces données en travaillant avec le venin de cobra, qu'en étudiant les toxines microbiennes proprement dites, dont les effets se produisent avec une régularité moins frappante.

Le venin de cobra permet de suivre pas à pas l'*établissement d'une immunité anticobraïque*, beaucoup mieux assurément qu'on ne pourrait suivre l'établissement d'une autre immunité.

Injectons sous la peau de lapins du venin de cobra en solution à 1 pour 20 000 dans l'eau salée, à dose non mortelle, mais peu inférieure à la dose mortelle (injectons p. ex. 4 c. c., soit 1/5 mgr. venin). Parmi ces lapins, les uns ont reçu 1 injection, les autres en ont reçu 2, ou un plus grand nombre, espacées de 5 jours. On fait l'essai d'immunité en injectant dans les veines des lapins 1 mgr. 1/2 de venin de cobra, 12 jours après la dernière injection préparatoire. Chez les lapins neufs l'arrêt respiratoire se produit en 21 à 22 min. ; il se produit exactement dans le même temps chez les lapins ayant reçu 1 ou 2 injections préparatoires (ce qui correspond à une absence totale d'immunité) : il se produit en 4 h. 1/2 chez le lapin ayant reçu 3 injections ; en 10 h. environ chez le lapin en ayant reçu 4 ; quant au lapin ayant reçu au moins 5 injections il survit sans présenter d'accidents.

N'insistons pas, ces exemples suffisent à montrer l'excellence des venins curarisants pour résoudre de délicats problèmes d'immunité. Et arrêtons là notre digression.

La méthode d'immunisation antitoxique dont nous nous sommes servis jusqu'ici ne permet pas de pousser très loin l'immunisation : nous avons noté une immunité contre 20 doses mortelles de sérum d'anguille (c'est une rareté), et contre 10 à 12 doses mortelles de venin de Cobra ; les immunités antidiphtérique et antitétanique obtenues ainsi ne dépassent pas ces valeurs, en supposant même qu'elles les atteignent. Si on insiste sur la préparation, en multipliant de plus en plus les injections, un moment arrive bientôt, qu'il s'agisse de sérums toxiques, de venins ou de toxines microbiennes, où des accidents se produisent (non pas les accidents aigus que détermine chez l'animal neuf l'injection d'une forte dose de toxine avec leurs caractères spécifiques), *des accidents toujours les mêmes* quelle que soit la toxine employée, et qui sont représentés par une *cachexie progressive,* c'est-à-dire par une déchéance organique, conduisant l'animal à la mort sans incidents aigus. Cette cachexie, qui se présente de bonne heure (quelques semaines après le début) dans le cours de l'immunisation, interrompt évidemment cette préparation avant qu'elle soit très développée. Ce n'est qu'exceptionnellement, et en procédant avec la plus grande prudence et avec une extrême lenteur qu'on parvient parfois à obtenir

avec cette méthode une immunité correspondant à 10-20 doses mortelles.

On s'est donc appliqué à améliorer le procédé, de façon à pousser plus loin l'immunisation, sans risquer, en cours de route, une interruption du fait de l'apparition de la cachexie progressive et mortelle. En général, on utilise pour la préparation les *toxines modifiées*.

Les uns modifient les toxines *par la chaleur* ; les autres les modifient par des *agents chimiques* convenablement choisis ; d'autres enfin les neutralisent par les sérums antitoxiques correspondants (fournis par des animaux immunisés par un procédé quelconque). Tous ces procédés ont donné, au moins dans certains cas, d'excellents résultats et ont permis de réaliser des immunités extrêmement puissantes, grâce auxquelles l'animal pouvait résister à l'inoculation de plusieurs centaines de doses mortelles, ou tout au moins de plusieurs dizaines. Voici des exemples.

Le premier procédé d'atténuation de la toxine (par la chaleur) a été employé jadis pour immuniser le lapin contre la toxine tétanique. On inocule d'abord à plusieurs reprises de la toxine chauffée à 60°, pui de la toxine chauffée à des températures de moins en moins élevées. Par exemple, on injectera 3 ou 4 fois à 3 jours d'intervalle 10 c. c. de toxine chauffée 1 h. à 60°, puis, de 5 jours en 5 jours, 10 c. c. de toxine chauffée 1 h. à 55°, et 10 c. c. de toxine chauffée 1 h. à 50°. A partir de ce moment, on injecte de 8 jours en 8 jours, ou de 10 jours en 10 jours, de la toxine non chauffée à doses progressivement croissante, d'abord 5 c. c., puis 10, 15, 20, 30 c. c., etc. (la dose mortelle pour un lapin neuf est comprise entre 1 et 2 c. c. de toxine non chauffée).

On peut obtenir des résultats équivalents chez le cobaye ; mais les doses injectées au début surtout doivent être plus faibles, parce que la toxine tétanique est beaucoup plus toxique pour le cobaye que pour le lapin : si p. ex. la dose mortelle d'une toxine tétanique pour un lapin de 2 à 2 kgr. 1/2 était de 2 c. c., la dose mortelle pour un cobaye de 250 à 300 gr. serait de 1/400 c. c. environ.

On a encore employé ce procédé d'atténuation par chauffage pour immuniser les petits animaux contre le venin de vipère. Ici l'atténuation de début doit se faire par chauffage à 80°.

Le second procédé d'atténuation de la toxime (par des substances chimiques) a été employé pour immuniser les chevaux destinés à fournir les sérums antidiphtérique ou antitétanique. Les substances

chimiques modificatrices des toxines les plus couramment employées ont été soit l'*iode* sous forme de *solution iodo-iodurée de Lugol ou de Gram*, soit le *trichlorure d'iode*, soit l'*hypochlorite de chaux* en solution à 1/60.

Sans entrer dans les détails de pratique, disons qu'on injecte tout d'abord de minimes quantités de toxine mélangée d'une notable proportion (50 °/₀ par exemple) de liqueur iodée, puis, en espaçant de quelques jours les injections, des quantités croissantes de cette toxine fortement iodée, puis de la toxine de moins en moins iodée, et finalement, 3 à 4 semaines après le début, de la toxine pure non modifiée en quantité petite d'abord, puis de plus en plus grande, jusqu'à en inoculer plusieurs centaines de c. c. en une injection, ce qui représente au moins 250 doses mortelles, chiffre auquel on arrive à la fin du 3e mois de préparation.

Pour la préparation des chevaux fournisseurs de sérum antivenimeux (venin de cobra), on injecte pendant plusieurs semaines des quantités croissantes de venin mélangé à des quantités décroissantes d'hypochlorite de chaux, puis du venin seul, à dose minime pour commencer, puis à doses progressives jusqu'à atteindre en une seule injection des doses 100 fois mortelles et plus encore.

Le troisième procédé d'atténuation de la toxine (par neutralisation par le sérum antitoxique correspondant fourni par des animaux immunisés par l'un des deux premiers procédés) consiste à injecter à la fois ou successivement *la toxine et l'antitoxine correspondante*, en employant d'abord une proportion d'antitoxine suffisante pour neutraliser la toxine, puis des proportions d'antitoxine de plus en plus réduites, jusqu'à ce qu'on n'injecte plus que la toxine à doses progressivement croissantes. Ce troisième procédé, a-t-on prétendu, permettrait d'atteindre plus vite une très forte immunité que tout autre procédé.

Par ces différentes méthodes on a pu immuniser les animaux assez puissamment pour qu'il supportent sans présenter d'accidents l'inoculation de 100, de 200 (parfois plus) doses mortelles pour l'animal neuf.

Cette immunité antitoxique acquise est de longue durée. Si, après l'avoir réalisée, on cesse de pratiquer les injections de toxine, elle ne disparaît totalement qu'après de nombreux mois, voire des années. Mais elle ne se maintient pas invariable au maximum où on l'avait portée : déjà 15 à 20 jours après la dernière injection, on peut (si l'on met en œuvre des procédés délicats d'analyse) reconnaître une très légère diminution du degré d'immunité ;

la décroissance s'accentue progressivement. Il est nécessaire, si l'on veut conserver l'animal en état d'*immunité maxima*, de continuer régulièrement, de semaine en semaine, ou au moins de quinzaine en quinzaine, à injecter des doses massives de toxine.

Il est possible d'*immuniser un animal à la fois contre plusieurs toxines et notamment contre plusieurs venins.* On a, p. ex., immunisé des chevaux contre le venin de Cobra et contre le venin de Bothrops, ou encore contre le venin de plusieurs Lachesis. Ce sont là des *immunisations mixtes*. Il semble bien qu'en tel cas chacun des venins se comporte vis-à-vis de l'organisme comme s'il était injecté seul, et que l'organisme réagit à ces inoculations mixtes, comme si elles étaient simples, une immunisation ne nuisant en rien à l'autre.

On a pu immuniser les animaux contre maintes toxines, dont il n'a pas été parlé ci-dessus, les unes provenant de cultures microbiennes filtrées (p. ex. une culture cholérique), les autres extraites de certains végétaux, telles que l'*abrine* retirée des graines d'Abrus precatorius (Jequirity) la *ricine* des graines de Ricin, la *rubine* de l'écorce d'Accacia, etc.

Quelle est la cause de cette immunité antitoxique acquise, ou plus exactement son mécanisme? Précisons le problème en le *délimitant*: l'immunité acquise est-elle la conséquence de la production d'une substance nouvelle engendrée par l'organisme inoculé et qui neutralise la toxine injectée; ou bien est-elle la conséquence d'une insensibilisation des éléments anatomiques qui, chez l'animal neuf, sont sensibles à l'action de la toxine injectée? Comme les substances produites par l'organisme passent d'ordinaire dans le sang, et plus généralement dans les liquides ou humeurs de l'organisme, on peut encore formuler ainsi la question que nous nous posons: *l'immunité antitoxique acquise est-elle cellulaire ou humorale?* Rappelons ici que l'immunité antitoxique naturelle est essentiellement cellulaire, le sérum sanguin ou les humeurs des animaux réfractaires n'étant pas antitoxiques.

L'expérience répond catégoriquement à la question po-

sée : *le sérum sanguin des animaux immunisés contre une toxine ou contre un venin renferme une antitoxine ou un antivenin,* c'est-à-dire une substance (néoformée, puisque le sérum normal n'en contient pas) capable de neutraliser la toxine ou le venin.

Un lapin a été immunisé contre la toxine tétanique, jusqu'à résister à 50 doses mortelles p. ex. Saignons-le, puis mélangeons à une dose de toxine tétanique plus que suffisante pour tuer un lapin neuf un égal volume de sang défibriné ou de sérum du lapin immunisé et injectons ce mélange dans l'organisme d'un lapin neuf. Les accidents tétaniques ne se produisent pas : le sang défibriné ou le sérum du lapin immunisé a donc neutralisé l'effet que la toxine seule eût exercé sur le lapin neuf.

Un cheval a été immunisé contre la toxine diphtérique jusqu'à en supporter sans accident 100 doses mortelles ou plus. Il fournit un sérum qui, ajouté en quantité convenable à une dose de toxine diphtérique sûrement mortelle pour un cobaye neuf, la rend inoffensive pour cet animal.

Un cheval a été immunisé contre 100 doses mortelles de venin de cobra : son sérum mélangé au venin de cobra en proportions convenables le neutralise, c'est-à-dire le rend inoffensif pour les animaux sensibles. Nous avons noté que 2 mgr. de venin de cobra injectés dans les veines du lapin provoquent l'arrêt respiratoire en 18 minutes. Si à ces 2 mgr. de venin de cobra on ajoute 5 c. c. du sérum de cheval immunisé, le lapin auquel on injecte ce mélange survit sans présenter aucun accident.

Le sang et le sérum ne sont pas les seuls liquides de l'organisme des animaux immunisés qui possèdent une propriété antitoxique. On l'a reconnue dans la lymphe, dans les transsudats, dans le liquide d'œdème.

On peut encore mettre en évidence la propriété antitoxique du sérum des animaux immunisés quand l'immunité n'a pas été portée au maximum, quand l'animal ne résiste qu'à un petit nombre de doses mortelles. Mais alors le pouvoir antitoxique du sérum est assez faible, beaucoup plus faible en tout cas que celui du sérum des animaux fortement immunisés. Pour le manifester, il faut mélanger à peu de toxine beaucoup de sérum, et noter avec soin l'évolution des accidents pour reconnaître au moins une atténuation de l'intoxication. Il importe peu d'ailleurs que

le pouvoir antitoxique du sérum soit faible dans ces cas là ; il suffit pour notre démonstration qu'il existe dans l'immunité modérée comme dans l'immunité maxima.

Si on soumet à la préparation d'immunisation des *animaux réfractaires* à l'action de la toxine, leur sérum acquiert des propriétés antitoxiques comme celui des animaux sensibles. La production d'antitoxine n'étant pas liée à la production d'accidents toxiques ne saurait donc être considérée comme réaction morbide.

La poule, dans les conditions normales, est réfractaire à l'action de la toxine tétanique ; pourtant le sérum de la poule soumise aux injections de toxine tétanique, pratiquées selon le mode ordinaire, présente un pouvoir antitoxique très net.

Le sérum des animaux immunisés contre une toxine est antitoxique, et cela suffit, au moins chez les animaux fortement immunisés, à rendre compte de l'immunité antitoxique présentée par l'animal considéré.

Si on retirait la totalité du sang d'un cheval immunisé contre 100 doses mortelles de venin de cobra, et si on en séparait le sérum, on constaterait aisément que ce sérum est capable de neutraliser totalement les 100 doses mortelles et souvent au delà. On pourrait faire de semblables constatations chez les chevaux fortement immunisés contre les toxines diphtérique et tétanique.

Mais cela ne prouve pas que le changement organique subi par les animaux du fait de l'immunisation se réduit à l'acquisition de cette propriété antitoxique du sérum et des humeurs. Il pourrait y en avoir quelqu'autre (les physiologistes ont maintes fois constaté que la nature est riche en ressources diverses, et multiplie comme à plaisir, en les variant du reste, les agents qui doivent travailler à son plus grand bien), p. ex. il se pourrait que quelque transformation cellulaire eût rendu les animaux immunisés semblables à ces animaux réfractaires aux toxines et dont le sérum n'est pas antitoxique. S'il en était ainsi, les animaux immunisés contre les toxines posséderaient une double immunité, l'immunité humorale que nous avons reconnue et une immunité cellulaire.

Pour établir l'existence d'une telle immunité cellulaire (dans l'immunité acquise), on a apporté des preuves diverses, qui sont toutes fort peu démonstratives dans les conditions où elles peuvent être administrées, et que, par conséquent, il ne convient pas d'exposer et de discuter ici.

Bornons-nous, après avoir reconnu la propriété antitoxique du sang et des humeurs de l'animal immunisé, à déclarer que cette propriété, qui suffit à rendre compte en général de l'immunité de l'animal qualitativement et quantitativement, n'est pas exclusive de quelque autre mécanisme d'immunité. Mais nous avons mieux à faire qu'à nous dissiper avec les dogmes et les théories.

En injectant dans l'organisme des toxines, venins, protéines toxiques, nous avons provoqué la formation d'antitoxines spécifiques. Nous verrons qu'en injectant dans l'organisme des protéines toxiques ou inoffensives provenant d'un animal d'autre espèce, nous provoquons la formation de précipitines, c'est-à-dire d'agents capables de faire apparaître un précipité in vitro dans la liqueur ayant servi à la préparation de l'animal ; — qu'en injectant des éléments figurés divers provenant d'une autre espèce (spermatozoïdes p. ex.) ou des microbes, nous provoquons la formation d'agglutinines, c'est-à-dire d'agents capables de condenser en masses floconneuses les éléments figurés en suspension dans les milieux, semblables à ceux qui ont servi à la préparation ; — qu'en injectant des hématies fournies par un animal d'une autre espèce, nous provoquons la formation d'hémolysines, c'est-à-dire d'agents capables d'hématolyser les globules rouges ayant servi aux injections préparatoires, etc.

On désigne parfois sous le nom d'*antigènes* toutes les matières, quelles qu'elles soient, cellules, microbes, protéines, toxines, venins, qui, injectées dans l'organisme une ou plusieurs fois, font acquérir au sérum de l'animal injecté une propriété nouvelle quelconque se manifestant de façon spécifique à l'égard de l'élément qui a servi à la préparation. On rapporte cette propriété nouvelle à la présence dans le sérum d'un agent, auquel on donne le nom général d'*anticorps*, quel qu'il soit et qu'elle qu'en soit la propriété. Le sérum contenant un ou plusieurs anticorps pourrait avantageusement être appelé *antisérum* ou *sérum anti* ; mais on a adopté le terme *immunsérum*, — qui veut dire sérum d'un animal ayant subi une ou plusieurs injections préparatoires, telles qu'on les pratique quand on se propose d'immuniser un animal contre une toxine p. ex. (ou contre un microbe). L'animal possédant un immunsérum est dit *immun*.

Ces mots *immunsérum* et *immun* sont regrettables, car ils peuvent prêter à confusion pour qui n'est pas exactement prévenu. Notons donc expressément que *l'immunsérum n'est pas toujours et nécessairement un sérum d'immunisé,* c'est-à-dire *un sérum antitoxique ou un sérum antimicrobien.* Il peut l'être assurément (et p. ex. les sérums antidiphtérique et antitétanique sont à la fois sérums d'immunisés et immunsérums, puisque, tout à la fois, ils sont antitoxiques et proviennent d'animaux ayant subi les injections répétées d'antigène), mais il ne l'est pas toujours et nécessairement : un sérum précipitant ou hématolytique est, par définition, immunsérum, puisqu'il est fourni par des animaux ayant subi des injections d'antigènes (protéines ou hématies), mais il n'a assurément rien à faire avec l'immunité. Notons encore expressément que *les deux expressions immunisé et immun ne sont pas synonymes* : un animal immunisé contre une toxine ou un microbe est à la fois immunisé et immum ; mais un animal fournisseur de sérum précipitant, hématolytique ou agglutinant est immun sans doute, mais n'est nullement immunisé contre quelque agent toxique ou pathogène.

CHAPITRE IX

LES SÉRUMS ANTITOXIQUES

SOMMAIRE. — Hyperimmunité et sérums thérapeutiques de cheval. — Préparation des chevaux fournisseurs de sérum antidiphtérique et remarques à ce sujet. — Quelques propriétés des sérums thérapeutiques. — Les antitoxines : tentatives de séparation et d'isolement. — La neutralisation de la toxine par l'antitoxine est directe : ricine, venins coagulants ; elle se fait selon la loi des proportions définies. — Les antitoxines neutralisent tous les effets toxiques des toxines : venins de Cobra et de Scorpion. — L'action des antitoxines est spécifique ; justification de cette proposition et réserve. — La neutralisation des venins par les antivenins est instantanée : expériences in vitro et in vivo ; remarques sur quelques expériences mal interprétées. — Les antitoxines ne sont pas des diastases. — Régénération de la toxine en partant du mélange neutre toxine-antitoxine : exemple emprunté à l'histoire des venins ; de la préparation d'hyperimmunité dans ses phases avancées. — Les sérums antitoxiques sont préventifs ; immunité passive et ses caractéristiques. — Influence de la voie d'injection ; durée de l'immunité passive. — Les sérums antitoxiques sont-ils curatifs ? — Du sens du mot curatif. — Trois cas examinés. — Sérum antidiphtérique et conditions de son efficacité. — Sérum antitétanique non curatif. — Sérum anticobraïque : études de sérothérapie anticobraïque faites dans diverses conditions ; démonstration rigoureuse de l'effet curatif du sérum anticobraïque. — La question de l'origine des antitoxines n'est pas résolue. — Dans le maquis des théories. — Spécificité des antitoxines et conception dérivée ; les antitoxines sont-elles des toxines transformées ; objection. — Les antitoxines sont-elles produites par quelque élément de l'organisme vivant excité par les toxines ? — Réserves des physiologistes et raisons de ces réserves. — Théorie d'Ehrlich ; point de départ chimique ; naissance et développement de la théorie ; images littéraires et rêveries. — Une improbabilité. — Prière d'attendre.

Le sérum des animaux immunisés contre plusieurs doses mortelles d'une toxine ou d'un venin manifeste des propriétés antitoxiques, c'est-à-dire neutralise une certaine

quantité de la toxine ou du venin utilisés dans la préparation du fournisseur de sérum. Pour étudier les propriétés de ces *sérums antitoxiques* et celles de l'agent qui leur confère cette action antitoxique (*antitoxine*), nous aurons recours aux sérums les plus actifs possible : on les obtient en prolongeant longuement la préparation d'immunité, en réalisant ainsi l'*hyperimmunité*, c'est-à-dire l'immunité contre un très grand nombre de doses mortelles pour l'animal neuf. De tels sérums d'ailleurs sont préparés dans un *but thérapeutique,* afin, tout à la fois, de pouvoir recueillir aux dépens d'un seul animal une grande quantité d'antitoxine, et de pouvoir se borner à en injecter de petites quantités pour appliquer, chez le malade, le traitement antitoxique.

Pratiquement on utilise le *cheval* : il fournit une grande quantité de sérum ; et puis son sérum n'est pas toxique pour l'homme, qu'on l'injecte sous la peau, dans les muscles, dans les veines, ou ailleurs ; enfin il s'est trouvé qu'il convient fort bien à la réalisation de l'hyperimmunité et qu'il est un des animaux dont le sérum peut s'enrichir d'antitoxine au maximum.

Un cheval immunisé contre la toxine diphtérique et ayant reçu lors de la dernière injection préparatoire 500 c. c. de toxine, a fourni un sérum dont 1 c. c. neutralisait une quantité de toxine diphtérique capable de tuer 50 000 cobayes. On obtient des résultats au moins aussi remarquables pour le sérum du cheval immunisé contre la toxine tétanique.

Un cheval immunisé contre le venin de cobra a fourni un sérum dont 1 c. c. neutralisait 0 mgr. 7 de venin sec, c'est-à-dire 15 fois la dose mortelle pour le cobaye (dose mortelle 1/20 mgr.). Les chevaux immunisés contre les venins de Bothrops et de Cascavel fournissent des sérums neutralisant 1 mgr. de venin sec à la dose de 1 c. c. C'est dire que les sérums antivenimeux sont beaucoup moins puissants que les sérums antidiphtérique et antitétanique.

En préparant les chevaux producteurs du sérum antidiphtérique, on a noté des faits intéressants, dont nous allons résumer les principaux.

Tous les chevaux ne sont pas équivalents comme producteurs d'antitoxine diphtérique. En fin de préparation, c'est-à-dire quand la puissance antitoxique du sérum n'augmente plus après une nouvelle

et abondante injection de toxine, tel cheval fournira un sérum possédant une activité antitoxique double, triple et même quadruple de tel autre, toutes conditions ayant été rigoureusement semblables durant la préparation. Il est même, exceptionnellement d'ailleurs, des chevaux qui ne fournissent jamais qu'un sérum faiblement actif et en vérité inutilisable dans la pratique sérothérapique. Le maximum d'activité antitoxique est de coutume atteint lorsque la dose de toxine injectée en une fois est de 250 à 300 c. c. ; exceptionnellement il ne l'est qu'après injection de 500 à 600 c. c. de toxine.

Le maximum d'activité antitoxique n'est pas réalisé aussitôt après la dernière injection. Toute injection de toxine, à quelque moment que ce soit de la préparation, abaisse le pouvoir antitoxique du sang; ce n'est guère que 5 jours après l'injection que le sang a recouvré sa valeur antitoxique, telle qu'elle était au moment de la dernière injection; il continue d'ailleurs à s'enrichir en antitoxine du 5e au 10e ou 12e jour (jusqu'au 20e jour pour le sérum antitétanique); il conserve cette activité maxima durant quelques jours seulement, puis, si on ne renouvelle pas les injections, il s'appauvrit progressivement, et perd finalement toute propriété antitoxique au bout de plusieurs mois. En s'appuyant sur ces données, on a coutume de faire la prise de sang pour la préparation du sérum antitoxique 10 jours après la dernière injection préparatoire (on retire 6 à 8 litres de sang, qui donnent 2 l. 1/2 à 3 l. 1/2 de sérum), et parfois on renouvelle la prise 3 jours plus tard (6 l. de sang).

Pour que la valeur antitoxique d'un sérum ne fléchisse pas, ou plus exactement fléchisse le moins possible, il faut, après la saignée, renouveler les injections de toxines. Selon les instituts serothérapiques, on injecte aussitôt après la saignée de 300 à 500 c. c. de toxine, ou bien on attend pour faire les injections ici que 15 jours se soient passés, là que 3 à 4 semaines se soient écoulées. En général, on fait alors une nouvelle série d'injections en commençant par une dose notablement inférieure à la dose finale maxima de la première série, puis on augmente progressivement la dose, pour atteindre en 5 à 6 injections 600 c. c. Parfois aussi on se contente d'injecter de moindres proportions, mais en augmentant le nombre des injections : on injectera p. ex. 50 c. c. à 4 reprises, puis 100 c. c., 6 à 8 fois. Bref, il n'y a pas de règles fixes, il y a des pratiques propres à chaque institut.

Après cette seconde série d'injections toxiques, le sérum a toujours un pouvoir antitoxique moindre que celui qu'il présente lors de la première saignée : à peine atteint-on les 3/4 ; parfois on ne dépasse pas les 2/3. Après une troisième série d'injections le pouvoir antitoxique baisse encore et tombe à 1/2 ou 1/3 de la valeur maxima antérieurement acquise. C'est là une valeur qui demeure généralement fixe, si on multiplie les saignées et les injections toxiques.

Notons que ce ne sont là que des renseignements approximatifs. Tel cheval conserve pendant des années un sérum fortement antitoxique applicable au traitement sérothérapique de la diphtérie, si on pratique les saignées de 6 semaines en 6 semaines, ou de deux mois en deux mois, en faisant alterner les saignées et les séries d'injections toxiques. Tel autre cheval voit fléchir progressivement la valeur antitoxique de son sérum, malgré qu'il soit traité exactement comme le précédent. Parfois un cheval fournit pendant des années un sérum utilisable thérapeutiquement, donc riche en antitoxine, puis, tout à coup, sans raison apparente, le pouvoir antitoxique baisse, malgré qu'on pratique les injections toxiques, et finit par n'avoir plus qu'une valeur trop faible pour pouvoir utilement servir en thérapeutique. Non seulement, en cette matière, on note des différences inexpliquées, mais encore on est exposé aux surprises les plus inattendues. On est en plein empirisme.

La quantité d'antitoxine produite par un cheval soumis à l'immunisation antitoxique est incomparablement plus grande que la quantité qui suffirait à neutraliser la totalité de la toxine injectée en cours de préparation : dans certains cas tout au moins et pour les immunisations antidiphtérique et antitétanique, le rapport est comme les nombres 100 000 et 1.

Le *sérum antidiphtérique* maintenu en flacons remplis et à l'obscurité conserve pendant très longtemps son activité antitoxique (1 an et plus) intacte. Le sérum anticobraïque se comporte de même (après 6 ans la valeur antitoxique était rigoureusement la même qu'au moment de la récolte du sérum).

Le sérum antidiphtérique s'atténue sous l'influence de la lumière vive, lentement mais sûrement (après 3 ou 4 mois d'exposition au soleil le titre antitoxique est nettement abaissé). Il résiste à la température de 38° maintenue plusieurs jours consécutifs, mais il s'atténue quelque peu à 60° en 1 heure. L'oxygène pur le rend moins actif très rapidement ; l'air agit de même, mais notablement moins vite. Desséché dans le vide, il supporte un chauffage à 100° sans que son pouvoir antitoxique fléchisse ; le résidu sec n'est altéré qu'à 120° et encore modérément. Les antiseptiques du groupe phénol, lysol, toluol, ajoutés en quantité modérée ne le modifient pas. La filtration sur porcelaine dégourdie réduit considérablement sa puissance antitoxique.

On admet que les autres sérums antitoxiques se comportent vis-à-vis des agents physiques et chimiques comme le sérum antidiphtérique.

Toutes les tentatives faites pour isoler à l'état de pureté les *antitoxines,* en les séparant des substances qui les accompagnent dans les sérums, ont échoué.

Le sulfate d'ammoniaque ajouté à saturation au sérum antidiphtérique précipite la totalité des protéines et avec elles l'antitoxine. Le sulfate de magnésie ajouté à saturation au sérum antidiphtérique précipite la totalité des globulines et avec elles l'antitoxine. Pourtant l'antitoxine n'est pas une globuline; les globulines ne dialysent pas, le sérum antidiphtérique introduit dans un dialyseur laisse passer un peu d'antitoxine dans le liquide extérieur; — les globulines sont précipitées par un excès d'alcool fort et totalement coagulées quand elles demeurent quelques jours au contact de cet alcool fort; le sérum antidiphtérique étant précipité par un excès d'alcool fort et le précipité maintenu quelques jours au contact de cet alcool fort, il est possible d'extraire du précipité desséché, en le faisant macérer dans l'eau salée, un peu d'antitoxine.

Bref, l'antitoxine est précipitée avec les globulines par le sulfate d'ammoniaque, le sulfate de magnésie et l'alcool; mais elle n'est pas globuline, ni même protéine (au moins protéine coagulable).

Il nous a été impossible d'isoler les diastases et les toxines et par suite de connaître leur constitution chimique ; il nous est impossible d'isoler les antitoxines pour en étudier la constitution. Mais nous pouvons, sans les connaître, étudier certaines de leurs propriétés, comme nous avons étudié, sans connaître diastases et toxines certaines propriétés chimiques des premières, certaines propriétés toxiques des secondes.

Des opinions diverses ont été émises sur *le mode d'action des antitoxines.* De ce qu'un mélange en proportions convenables de toxine et de sérum antitoxique peut être injecté chez un animal sensible à l'action de la toxine sans produire d'accidents, les uns avaient conclu que l'antitoxine détruit la toxine in vitro, comme une substance chimique en détruit une autre (comme l'acide sulfurique concentré détruit une couleur d'aniline): la neutralisation antitoxique aurait été un fait chimique; l'innocuité du

mélange toxine-antitoxine aurait été due à l'absence de toxine. — De ce que la neutralisation de la toxine par le sérum antitoxique ne se peut démontrer que par l'injection du mélange toxine-sérum antitoxique, dans un organisme vivant, les autres tiraient cette conclusion que rien ne prouve que la destruction de la toxine ait eu lieu, et qu'il est possible que l'antitoxine contenue dans le mélange agisse sur l'organisme vivant pour le mettre en état de résister à l'action de la toxine présente dans le mélange, par un mécanisme d'ailleurs inconnu : la neutralisation aurait été un fait biologique ; l'innocuité de l'injection aurait été liée à l'exercice d'une propriété vitale. Et, des deux côtés, on apportait quelques faits de détail appuyant les conclusions présentées.

On a pu établir, sinon dans tous les cas, au moins dans quelques-uns, qui se prêtent particulièrement bien à la démonstration, que *la neutralisation est directe,* et peut se manifester en dehors de l'organisme vivant.

On peut extraire de la graine du ricin une toxine, dite *Ricine,* qui, injectée sous la peau, dans les muscles ou dans les veines des animaux de laboratoire, produit des accidents et la mort. Ajoutée à des hématies mises en suspension dans un grand excès d'eau salée, cette toxine les agglutine et en provoque la précipitation au fond du vase. Or, en pratiquant une série d'injections convenablement graduées et espacées, on a pu préparer un sérum antiricine capable de neutraliser l'effet toxique pour l'animal de la ricine à laquelle on l'ajoute. Si on ajoute ce mélange ricine-antiricine à une émulsion de globules rouges dans l'eau salée, l'agglutination et la précipitation ne se font plus. Ici on ne saurait imaginer que l'antitoxine a modifié de quelque façon l'organisme vivant, tout s'étant passé in vitro. Reconnaissons toutefois que cette démonstration prête à la critique, car si l'organisme fait défaut, il y a pourtant in vitro des hématies qui sont au moins organisées, et rien ne prouve que l'antitoxine n'a pas agi sur elles pour les rendre insensibles à l'action de la toxine du mélange.

Mieux vaut expérimenter avec les venins et les sérums correspondants.

Les *venins de Bothrops et de Cascavel* font coaguler in vitro les liqueurs fibrinogénées (plasmas oxalatés, citratés, fluorés, plasma de peptone, liquides de transsudat, solution de fibrinogène) : 1 mgr. de venin sec peut faire coaguler en 2 à 3 minutes à la température du

laboratoire 50 c. c. d'une liqueur fibrinogénée. Or, si à ces 50 c. c. de liqueur fibrinogénée on ajoute 1 c. c. de sérum antibothropique ou anticascavélique, puis 1 mgr. du venin correspondant, la liqueur ne coagule pas. Le sérum antivenimeux a donc neutralisé in vitro, en dehors de la présence d'un élément organisé quelconque, l'action coagulante du venin correspondant.

Si à du plasma citraté de cheval non spontanément coagulable, on ajoute 1 à 2 °/₀₀ de chlorure de calcium, on en provoque la coagulation fibrineuse. Si à ce plasma citraté on ajoute une petite quantité de venin de cobra, puis le chlorure de calcium, la coagulation se fait, mais avec un considérable retard (1 h. p. ex., au lieu de 15 min.). Reprenons l'essai en ajoutant au plasma citraté un mélange en proportions convenables de venin de cobra et de sérum anticobraïque, puis le chlorure de calcium la coagulation se fait aussi rapidement que si le venin de cobra n'avait pas été ajouté. Le sérum anticobraïque a neutralisé l'action anticoagulante du venin de cobra en dehors de la présence d'un élément organisé quelconque.

On démontre ainsi dans le cas des venins, et, généralisant, on admet dans le cas des autres toxines que la neutralisation de la toxine par l'antitoxine est un phénomène direct. Ajoutons sans tarder que *neutralisation ne veut pas dire nécessairement destruction de la molécule de toxine* : il s'agit de la *neutralisation de ses effets*.

La neutralisation de la toxine par l'antitoxine se fait conformément à la loi des proportions définies : c'est dire que, pour neutraliser exactement une quantité de toxine double, triple, décuple, centuple, il faut 2, 3, 10, 100 fois autant de sérum antitoxique que pour neutraliser l'unité de toxine. On peut le démontrer in vitro et in vivo.

Déterminons la quantité minima de sérum antibothropique capable de neutraliser le pouvoir coagulant de 1 mgr. de venin de Bothrops ; supposons que ce soit 0 c. c. 75 ; le mélange contenant 1 mgr. de venin et 0 c. c. 70 de sérum est encore coagulant. On vérifie que, pour supprimer l'action coagulante de 10 mgr. de venin, il faut 7 c. c. 5 de sérum, 7 c. c. n'y suffisant pas ; et que pour supprimer l'action coagulante de 20 mgr. de venin, il faut 15 c. c. de sérum, 14 c. c. n'y suffisant pas.

On obtient des résultats identiques en opérant avec le venin de cascavel et le sérum anticascavélique (action coagulante), avec le

venin de cobra et le sérum anticobraïque (action anticoagulante), avec la ricine et le sérum antiricine (action agglutinante).

L'injection intraveineuse de 2 mgr. de venin de cobra chez le lapin détermine l'arrêt respiratoire en 20 minutes environ. Déterminons la dose minima de sérum anticobraïque capable de neutraliser cet effet toxique du venin : supposons que ce soit 3 c. c. et que 2 c. c. 8 soient insuffisants pour assurer la survie du lapin. Si on injecte 4 mgr. de venin, il faut, pour le neutraliser, 6 c. c. de sérum, 5 c. c. 6 n'y suffisant pas ; si on injecte 10 mgr. de venin, il faut 15 c. c. de sérum, 14 c. c. n'y suffisant pas.

La démonstration est assurément moins catégorique quand on emploie les produits diphtériques et tétaniques (toxines et sérums correspondants) ; mais il ne faut pas oublier que les lapins présentent une réceptivité moins fixe pour ces toxines que pour le venin de cobra (2 mgr. de venin de cobra tuent des lapins de 2 kgr. 1/2 quels qu'ils soient, exactement en 20 à 22 min.). Le venin de cobra et le sérum anticobraïque sont les éléments de choix pour démontrer la loi des proportions définies.

Il y a plus : *la quantité de sérum antitoxique juste nécessaire pour neutraliser une quantité donnée de toxine est invariable,* quelle que soit la dilution de la liqueur toxique (au moins quand certaines conditions sont observées).

Ce sont bien là des *propriétés de combinaisons analogues aux combinaisons chimiques,* soumises, comme on sait, à la loi des proportions définies. Nous ne prétendons pas d'ailleurs qu'il s'agisse ici nécessairement de combinaisons chimiques ; il se pourrait qu'une union non chimique fût en jeu, une sorte de teinture, p. ex. ; mais au moins pouvons-nous dire que rien, dans les faits observés, n'est en opposition avec l'hypothèse d'une union chimique.

Les faits sont, il est vrai, moins nets pour d'autres toxines et d'autres sérums antitoxiques ; mais cela tient aux conditions nécessairement défavorables de tels essais (réceptivité parfois assez différente des animaux d'une même espèce animale vis-à-vis d'une même toxine).

L'action des sérums antitoxiques est générale, c'est-à-dire s'exerce sur toutes les manifestations toxiques de la toxine. La démonstration se fait très nettement pour les

sérums antivenimeux et les venins, parce que l'étude des venins a été poussée fort loin et qu'on connaît pour plusieurs d'entre eux des manifestations distinctes de toxicité. Elle peut se faire aussi pour quelques sérums antitoxiques et les toxines correspondantes.

Si on injecte dans les veines d'un lapin 3 mgr. de venin de cobra, on constate, 30 sec. après l'injection, un fléchissement de la pression artérielle, faible et peu durable, mais indiscutable ; — 2 à 3 min. après l'injection, une accélération respiratoire modérée et transitoire, mais non douteuse ; — 6 à 7 min. après l'injection, de la dyspnée, puis de l'asphyxie, et finalement 15 à 16 min. après l'injection, l'arrêt respiratoire par paralysie périphérique type curare. Si, au moment de l'arrêt respiratoire, on pratique la respiration artificielle, le cœur continue à battre, mais un peu plus tard la pression artérielle fléchit pour tomber à zéro 60 à 80 min. après l'injection. Le sang retiré des vaisseaux à un moment quelconque après l'injection ne coagule qu'avec un très grand retard (1 h. à 1 h. 1/2, au lieu de 10 à 15 min.).

Si on injecte dans les veines d'un lapin un mélange formé de 3 mgr. de venin de cobra et de 5 c. c. de sérum anticobraïque, aucun des phénomènes ci-dessus notés ne se produit, même atténué : la neutralisation a été générale.

Le venin de scorpion égyptien, Buthus quinque-striatus injecté dans les veines du lapin détermine une ascension de la pression artérielle brusque, considérable (la pression passe de 10 à 15 cm. de mercure), précoce (5 à 10 sec.) après l'injection, durant quelques min. ; des convulsions généralisées violentes ; un resserrement pupillaire intense, une salivation extrêmement abondante, rappelant celle de l'intoxication pilocarpinique. Aucun de ces accidents ne se produit chez le lapin à la suite de l'injection intraveineuse du même venin mélangé à une quantité convenable de sérum antiscorpionique.

De même enfin le sérum antidiphtérique supprime les accidents généraux dus à l'injection de la toxine, et les phénomènes paralytiques tardifs si typiques qu'elle provoque si particulièrement bien chez le lapin ; — le sérum antitétanique supprime les accidents convulsifs type strychnine, que détermine la toxine inoculée, et l'hématolyse qu'elle engendre quand on la fait agir in vitro sur des hématies.

Mais si *l'action du sérum antitoxique* est générale, c'est-à-dire se manifeste pour tous les accidents provoqués par la toxine correspondante, elle *est spécifique* c'est-à-

dire ne se produit que pour la toxine correspondante et non pas pour une autre toxine.

On démontre aisément cette proposition en expérimentant avec la toxine diphtérique, la toxine tétanique, le venin de cobra et les trois sérums antitoxiques correspondant à ces trois toxines. Seul le *sérum homonyme* neutralise la toxine correspondante ; les autres sérums ne suppriment pas et n'atténuent pas ses activités toxiques : ils n'agissent pas plus que n'agirait sur ces toxines du sérum de cheval normal.

Pourtant, avant de conclure, remarquons que ces trois toxines sont très dissemblables et ne produisent pas dans l'organisme des accidents de même ordre, et demandons-nous si la loi de spécificité à laquelle nous arrivions, ne s'évanouirait pas si l'on considérait des toxines d'origine microbienne, zoologique ou botanique distincte, mais produisant les mêmes effets.

Justement certains expérimentateurs ont soutenu que tous les venins renferment en proportions variables deux toxines au moins, une *neurotoxine* (poison nerveux) et une *hémorragine* (poison vasculaire et sanguin), la neurotoxine prédominant dans le venin des Cobras, l'hémorragine dans le venin des Crotales et des Lachesis ; et ont prétendu que le sérum fourni par des chevaux immunisés contre le venin de Cobra neutralise la neurotoxine quelle qu'en soit l'origine zoologique, et que le sérum fourni par des chevaux immunisés contre le venin de Crotale neutralise l'hémorragine contenue dans un venin quelconque. Cette conception est radicalement fausse ; nous allons préciser.

Les deux venins de Bothrops et de Cascavel sont à près rigoureusement équivalents. Injectés dans les veines du lapin à la dose de 1 mgr. ils provoquent ; l'un et l'autre, la mort foudroyante par coagulation intravasculaire. Injectés à la dose de 1/4 mgr. ils provoquent, l'un et l'autre, une chute de pression et une diminution de coagulabilité du sang. Mélangés in vitro à une liqueur fibrinogénée, ils en provoquent, l'un et l'autre, la coagulation fibrineuse. Il existe deux sérums correspondant respectivement à ces deux venins, un sérum antibothropique et un sérum anticrotalique, fournis par des chevaux respectivement immunisés contre le venin de Bothrops et contre le

venin de Cascavel. Or, si chacun de ces sérums à la dose de 1 c. c. neutralise exactement toutes les propriétés toxiques de 1 mgr. du venin correspondant ; il ne neutralise pas et n'atténue pas les propriétés toxiques de l'autre venin.

D'ailleurs, ni l'un ni l'autre de ces venins ne neutralise ou même n'atténue aucune propriété toxique des venins de Cobra, de Daboïa, de Vipère, etc.

Nous pouvons donc promulguer la loi de la spécificité des sérums antitoxiques : *un sérum antitoxique ne neutralise que la toxine* (ou le venin) *ayant servi à la préparation de l'animal fournisseur du sérum antitoxique.*

Mais ajoutons, sans tarder, que cette loi présente *quelques exceptions,* au moins partielles, dans le cas où les produits toxiques sont fournis par des animaux très voisins zoologiquement. Et nous en donnerons un exemple.

Le sérum anticobraïque à la dose de 1 c. c. neutralise 0 mgr. 7 de venin de Cobra. Il agit aussi sur les venins des espèces voisines, Hamadryas, Krait, Naja Haje, etc., mais plus faiblement : 1 c. c. de sérum anticobraïque on effet ne neutralise que 0 mgr. 035 de venin d'Hamadryas, soit une quantité 20 fois moindre (les deux venins sont toxicologiquement égaux qualitativement et quantitativement à poids égaux).

La spécificité n'est donc pas absolue quand les venins considérés proviennent d'espèces zoologiquement voisines ; mais pourtant, même dans ce cas, le venin ayant servi à la préparation du fournisseur de sérum est beaucoup plus sensible à l'action du sérum correspondant que les autres venins équivalents. En vérité, *même alors, on peut parler de spécificité* en notant qu'elle est ici *relative et non absolue,* comme elle le serait pour des espèces plus éloignées dans la série zoologique.

La neutralisation de la toxine par l'antitoxine est-elle un phénomène instantané comme la neutralisation d'un acide par une base, ou un phénomène lent et progressif comme l'éthérification d'un alcool par un acide ?

Dans le cas particulier des venins et des sérums antivenimeux, la question peut recevoir une réponse catégorique : *la neutralisation est instantanée.* On peut le démontrer in vitro et in vivo.

Si à 5 c. c. de plasma citraté de cheval on ajoute 1/2 mgr. de venin de Cascavel, la coagulation fibrineuse massive se fait en 20 sec. Si à 5 c. c. du même plasma citraté on ajoute d'abord 1/2 c. c. de sérum anticrotalique, puis 1/2 mgr. de venin de Cascavel, la coagulation ne se fait pas. La neutralisation du venin, agent coagulant, par l'antivenin était accomplie à 20 sec.

Si on injecte dans les veines d'un lapin du venin de Bothrops, on peut constater une chute de pression très brusque et très précoce (15 à 20 sec. après l'injection), considérable (la pression tombe d'un coup de 10 à 3 cm. de mercure) si la dose de venin injectée est de 2 mgr., plus réduite, mais aisément reconnaissable quand la dose injectée est réduite à 1/10 mgr. Si on mélange in vitro 2 mgr. de venin de Bothrops en solution dans 2 c. c. d'eau salée et 2 c. c. de sérum antibothropique, et si, sans attendre, on injecte le mélange dans les veines du lapin (pour mélanger et injecter, il ne faut pas plus de 5 sec.), il ne se produit absolument aucune modification de la pression. Donc l'agent dépresseur du venin a été totalement (plus des 19/20 tout au moins) neutralisé par le sérum antibothropique en 20 à 25 sec.

Si on injecte dans les veines du lapin du venin de scorpion d'Égypte, 5 sec. environ après l'injection il se produit une brusque ascension de la pression artérielle. Or si on mélange le venin de scorpion et le sérum antiscorpionique en proportions convenables, on peut l'injecter dans les veines du lapin sans provoquer aucune modification de pression, même si, opérant très vite, on n'a pas employé plus de 5 sec. pour mélanger et injecter. La neutralisation s'est donc faite ici en moins de 10 sec.

La démonstration peut revêtir une autre forme. Injectons dans les veines d'un lapin soit du sérum antibothropique, soit du sérum antiscorpionique, puis le venin correspondant : on ne relève pas de dépression avec le premier, pas d'hypertension avec le second. La neutralisation était donc accomplie dans le premier cas, en moins de 15 à 20 sec., dans le second, en moins de 5 sec.

En est-il de même pour toutes les toxines et pour toutes les antitoxines ? Il serait à coup sûr imprudent de l'affirmer sans vérification expérimentale. Or celle-ci ne saurait se faire : les toxines diphtérique et tétanique, p. ex., n'agissent qu'après une période d'incubation, dont la durée se chiffre par plusieurs heures au moins, parfois par 24 h. et plus. Comment savoir à quel moment, durant cette longue incubation, la neutralisation était accomplie ? Nous ne sommes donc pas en mesure de formuler une opinion dans ces cas là.

Bref, la neutralisation des venins par les antivenins est instantanée ; la neutralisation des toxines par les antitoxines l'est peut être aussi, car aucun fait connu n'est opposé à cette conclusion ; mais on ne l'a pas démontré.

Sans doute, on a publié autrefois des conclusions opposés, basées sur des expériences dans lesquelles on faisait agir du sérum anticobraïque sur du venin de serpent-tigre australien (imaginant que l'antitoxine de ce sérum neutralise ce venin comme elle neutralise le venin de cobra, ce qui est absolument faux) : l'injection de ce mélange chez le lapin (toutes proportions restant les mêmes entre les constituants) entraînait des accidents d'autant plus graves que l'injection était faite plus tôt après le mélange (p. ex. 5 m.), d'autant plus bénins qu'elle était faite plus tard (p. ex. 1 h.).

Nous ne songeons pas à contester l'observation elle-même, mais nous contestons l'interprétation qu'on en a donnée. Le sérum anticobraïque en effet n'exerce pas d'action neutralisante spécifique sur le venin de serpent-tigre : il l'atténue il est vrai légèrement, mais du sérum de cheval normal l'atténue aussi et tout autant. Il se peut fort bien que cette atténuation du venin de serpent-tigre par le sérum de cheval se fasse lentement et progressivement ; mais cette atténuation n'est pas un fait de neutralisation de toxine par l'antitoxine et par conséquent ne saurait nous renseigner sur les lois qui président aux rapports des toxines et des antitoxines. Nos conclusions sur l'instantanéité de la réaction demeurent.

Cette conclusion nous permet d'éliminer une conception qui s'était fait jour, à savoir que les antitoxines détruisent les toxines, comme les diastases détruisent, en les transformant chimiquement, les substances sur lesquelles elles agissent. *La neutralisation des venins par les antivenins n'est pas l'équivalent d'une réaction diastasique.* Cette neutralisation est instantanée même quand les liqueurs sont très diluées ; les transformations diastasiques ne sont pas instantanées et s'accomplissent d'autant plus lentement que les liqueurs sont plus diluées. En outre la quantité de substance chimiquement transformée par la diastase ne dépend pas de la quantité de diastase présente ; ce qui varie avec la quantité de diastase, c'est la durée de la transformation. Nous avons reconnu, tout au contraire, qu'il existe un rapport constant entre le volume du sérum neutralisant et le volume de la toxine neutrali-

sée. Enfin, dans l'acte diastasique, la substance chimique est transformée, et si l'on séparait la diastase de la substance transformée, on ne constaterait pas le retour de celle-ci à sa forme chimique primitive. On peut, au contraire, observer, au moins en quelque mesure et au moins dans certaines conditions, ce retour à l'état de toxine, de l'élément toxique neutralisé par l'antitoxine.

La question s'est en effet posée et sous la forme suivante. *Du mélange neutre de toxine et d'antitoxine correspondante peut-on extraire la toxine ou la régénérer?* Ou encore : peut-on faire réapparaître la toxicité d'une liqueur rendue inoffensive par addition d'antitoxine ? Voici quelques faits.

Si l'on ajoute 10 gouttes de venin de Bothrops à 1 °/₀₀ à 10 c. c. de plasma citraté de cheval, on en provoque la coagulation fibrineuse. Dans une série de tubes contenant 10 c. c. de plasma citraté ajoutons respectivement 1, 2... 10 gouttes de sérum antibothropique, puis, dans tous, 10 gouttes de la solution de venin : les moins riches en sérum antibothropique coagulent, les plus riches en sérum ne coagulent pas. Supposons que le moins riche en sérum des mélanges qui ne coagulent pas soit celui qui en renferme 7 gouttes : nous dirons que 7 gouttes de sérum antibothropique neutralisent 10 gouttes de la solution de venin, que 6 gouttes de sérum ne neutralisent pas complètement.

Ceci posé, réalisons de tels mélanges contenant 10 c. c. de plasma citraté, 7 gouttes de sérum antibothropique et 10 gouttes de venin de Bothrops à 1 °/₀₀. Ajoutons aux uns 38 c. c. d'eau distillée, et aux autres 10 c. c. d'eau salée. Les premiers coagulent ; les seconds ne coagulent pas. C'est donc que, sous l'influence de la dilution par l'eau distillée, un peu de venin a été régénéré, qui était antérieurement totalement neutralisé par l'antivenin.

Des expériences, dans le détail desquelles il est inutile d'entrer, établissent d'ailleurs que, dans ces conditions, cette régénération du venin est toujours très faible ; mais elle n'est pas douteuse.

Nous en concluons d'une part que la neutralisation du venin par l'antivenin ne détruisant pas le premier ne saurait être assimilée à une transformation diastasique, et d'autre part que cette neutralisation ne détruit pas le venin, mais en supprime l'activité, mieux vaudrait dire certaines activités. Car les mélanges neutres de toxine et d'anti

toxine ou de venin et d'antivenin ont conservé la propriété, que possédaient les toxines ou les venins, d'immuniser les animaux auxquels on les injecte. En voici deux exemples.

Nous avons noté ci-dessus qu'on procède parfois à l'immunisation des chevaux fournisseurs de sérum antitoxiques en leur injectant des mélanges neutres de toxine et de sérum correspondant : il serait au moins surprenant que ce résultat pût être obtenu, si la toxine avait été radicalement détruite lors de sa neutralisation.

D'autre part, quand, pour obtenir des sérums antivenimeux, on injecte du venin à des chevaux, un moment arrive, en cours de préparation, où le sang de l'animal renferme assez d'antitoxine pour neutraliser le venin injecté; comme cette neutralisation se fait aussitôt que le venin arrive dans le sang, on peut admettre qu'à partir de ce moment l'organisme ne subit l'action que du venin neutralisé. Et pourtant l'immunité est renforcée, et, quand elle a atteint son maximum, elle est au moins entretenue : il serait au moins surprenant qu'un tel résultat pût être obtenu si le venin avait été radicalement détruit dès qu'il arrive au contact du sang.

Concluons donc que l'*antitoxine supprime les activités toxiques de la toxine correspondante, mais ne supprime pas la toxine.*

Les sérums antitoxiques sont encore *préventifs* ; c'est-à-dire qu'introduits dans l'organisme d'un animal sensible à l'action de la toxine correspondante, ils lui permettent (au moins pendant les jours qui suivent l'injection) de supporter, sans présenter d'accidents, l'inoculation d'une quantité de toxine capable de provoquer des troubles pathologiques et même la mort chez les animaux neufs.

On appelle l'immunité ainsi conférée *immunité passive,* l'opposant, par cette dénomination, à l'*immunité active,* qui se développe à la suite d'injections de toxines. Dans celle-ci, l'organisme fabrique lui-même l'antitoxine que renferment son sang et ses humeurs ; dans celle-là, l'organisme ne fabrique pas d'antitoxine : il est protégé par celle qu'on lui fournit, et aussi longtemps qu'elle demeure en lui.

Il y a des *degrés dans l'immunité passive,* comme il y en a dans l'immunité active. D'une façon très générale, on

peut dire que toutes conditions étant égales, notamment quant à l'animal considéré (espèce, âge, poids, etc.), quant au mode d'inoculation du sérum (sous-cutanée, intramusculaire, intraveineuse, etc.) et quant à l'époque à laquelle se pratique l'essai d'immunité (à partir du moment de l'injection du sérum), la grandeur de l'immunité passive dépend de la quantité de sérum antitoxique injectée : elle est d'autant plus grande que plus grande est cette quantité. L'immunité passive diminue d'ailleurs progressivement et assez rapidement, comme si l'antitoxine était détruite ou éliminée peu à peu de l'organisme.

On a dit parfois que l'injection de sérum antitoxique rend l'animal semblable à un animal activement immunisé, au point de vue de la résistance à la toxine. C'est exact quant au résultat global (il ne se produit pas d'accidents à la suite de l'injection toxique) ; mais il est difficile d'affirmer que les mécanismes en jeu sont nécessairement les mêmes dans les deux cas : dans l'immunité passive, l'organisme se défend exclusivement par l'antitoxine qui existe en ses humeurs ; dans l'immunité active, il y a bien de l'antitoxine formée, mais la possibilité d'une insensibilisation des éléments normalement sensibles à la toxine n'est pas exclue. Il convient donc de réserver son jugement.

Quant à l'immunité naturelle, elle relève d'un tout autre mécanisme que celui qui joue dans l'immunité passive : l'immunité naturelle est cellulaire, en général, exclusivement ; l'immunité passive est exclusivement humorale.

La *voie d'introduction du sérum antitoxique* a une notable influence sur la grandeur de l'immunité passive qu'il confère. Cette notion a été mise nettement en évidence pour le venin de Cobra et pour le sérum anticobraïque, chez le lapin.

On a constaté, dans ce cas tout au moins, que l'injection intraveineuse et l'injection intrapéritonéale sont équivalentes ou à peu près, de même que les injections sous-cutanées et intramusculaires le sont entre elles. Pour les deux premiers modes d'injection, l'immunité passive est notablement plus forte que pour les deux dernières (les valeurs de ces immunités passives pourraient être représentées par les

nombres 2 et 1 ou même 3 et 1), au moins quand l'essai d'immunité est fait dans les 24 h. suivant l'injection du sérum. Si, au contraire, l'essai d'immunité est pratiqué plus tardivement (7 jours p. ex. après l'injection du sérum), l'immunité passive est un peu plus forte chez les animaux ayant reçu le sérum sous la peau que chez ceux l'ayant reçu dans les veines. On pourrait schématiser ces résultats sous cette forme : la méthode des injections intraveineuses est la méthode des effets puissants et d'un peu plus courte durée ; la méthode des injections sous-cutanées est la méthode des effets faibles et d'un peu plus longue durée.

On a pu facilement établir *les lois de la durée et de la disparition d'une immunité passive* dans le cas du sérum anticobraïque. Cette immunité est d'autant plus durable que plus grande a été la quantité de sérum injectée ; mais la durée n'est pas proportionnelle à la quantité de sérum injectée : on constate, en effet, que la quantité d'antitoxine détruite dans l'organisme ou éliminée de l'organisme en un temps donné est d'autant plus grande que l'organisme en renferme davantage.

Dans le cas du sérum antidiphtérique injecté chez l'homme sous la peau à la dose de 20 c. c. p. ex., on peut reconnaître que le maximum du pouvoir antitoxique du sang n'est atteint qu'en 48 h., que ce maximum se maintient 2 ou 3 jours, après quoi ce pouvoir antitoxique diminue progressivement, pour disparaître en 3 semaines environ.

On a encore noté qu'à égalité de pouvoir antitoxique de sérums, la durée de l'immunité passive est plus longue quand le sérum antitoxique provient d'un animal de même espèce que celui qui reçoit l'injection de sérum (sérum antitoxique de lapin injecté à un lapin) et plus courte quand le sérum antitoxique provient d'un animal d'une autre espèce que celui qui reçoit l'injection de sérum (sérum antitoxique de cheval injecté à un lapin). Cela ne saurait d'ailleurs surprendre, si l'on veut bien se souvenir que les animaux possèdent des moyens de détruire les protéines étrangères introduites dans leur organisme.

L'immunité passive, conférée par un sérum provenant d'un animal de même espèce n'est pourtant pas perpétuelle et immuable ; elle s'atténue aussi, moins rapidement, c'est entendu, mais cependant assez rapidement encore. D'où l'on peut conclure que les antitoxines, quelle qu'en soit l'origine sont détruites dans l'organisme ou éliminées de l'organisme dans lequel on les a introduites.

Les sérums antitoxiques sont donc préventifs : introduits dans l'organisme à dose suffisante, ils neutralisent les effets d'une toxine qu'on y introduit plus tard dans les conditions spécifiées ci-dessus. Sont-ils *curatifs,* c'est-à-dire *introduits dans l'organisme alors que les accidents ont déjà éclaté et se développent, en arrêtent-ils l'évolution et les font-ils disparaître ?* Car c'est bien là, si je ne me trompe, le sens du mot curatif.

Certains auteurs ont donné au mot curatif un sens plus large : un sérum, d'après eux, est curatif quand, introduit dans l'organisme après la toxine, il empêche l'apparition des accidents. N'oublions pas que les toxines proprement dites n'engendrent des accidents qu'après une période d'incubation, durant laquelle l'animal ne semble pas différent d'un animal normal : convient-il d'appliquer le qualificatif curatif à un sérum qui, injecté pendant cette période, empêcherait les accidents d'éclater ? Ne vaut-il pas mieux, si nous pensons en médecins, le considérer, et nous le considèrerons, comme préventif. C'est là d'ailleurs une simple question de définition ; il nous suffira donc d'avoir défini le sens du mot curatif, qualité d'un sérum qui arrête et supprime des accidents pathologiques présents.

Nous allons prendre trois exemples de *sérothérapie antitoxique,* à savoir les *sérothérapies antitétanique, antidiphtérique et antivenimeuse,* pour recueillir les faits nécessaires pour répondre à la question posée.

Déterminons les volumes v_t d'une toxine tétanique et v_s d'un sérum antitétanique capables de se neutraliser exactement, et supposons que le volume v_t représente un grand nombre de doses mortelles 50 p. ex. Si on injecte simultanément dans les veines d'un lapin v_t et v_s, aucun accident ne se produit dans la suite ; la neutralisation s'est faite, comme elle se fait in vitro. — Si on attend 10 min. pour injecter le sérum, après qu'on a injecté la toxine, les doses restant les mêmes, les accidents tétaniques se produisent, un peu plus tard, il est vrai, que si l'on n'avait pas injecté de sérum, mais ils évoluent implacablement jusqu'à la mort. Pour neutraliser v_t de toxine dans ces conditions, il faudrait augmenter la dose de sérum, la porter p. ex. à 8 v_s. — Si on attend plus longtemps pour injecter le sérum (1 h.), il faudrait, pour empêcher les accidents de se produire, employer plus de sérum, 40 v_s peut-être. — Enfin, si on tarde plus encore (2 à 3 h.), le sérum est inopérant, quelle qu'en soit la dose. Et pourtant, à ce moment, la période d'incubation n'est pas close ; l'animal ne

présente encore aucun trouble apparent. Il est superflu d'ajouter que, si les accidents tétaniques ont éclaté, l'inoculation du sérum antitétanique, à une dose quelconque, et en quelque région de l'organisme que ce soit, est absolument inefficace.

Si la dose de toxine injectée est moindre (2 à 3 doses mortelles seulement), les faits sont équivalents, mais les apparences sont quelque peu modifiées. Il suffit alors d'injecter une quantité de sérum un peu supérieure à la quantité strictement équivalente in vitro pour empêcher les accidents d'apparaître, si l'injection de sérum suit l'injection de toxine à 1 h. de distance. Ce n'est que beaucoup plus tard qu'il faut exagérer considérablement la dose. Ici encore d'ailleurs, un moment arrive, et qui précède les accidents tétaniques, où l'injection d'une dose quelconque de sérum antitétanique est inefficace.

Le *sérum antitétanique n'est pas curatif* au sens médical du mot : il ne supprime pas des accidents tétaniques existant. Il n'est même préventif, au sens médical du mot, que si son injection précède l'injection de toxine, ou si elle la suit d'assez près.

Déterminons les quantités v_d de toxine diphtérique et v_s de sérum antidiphtérique capables de se neutraliser exactement in vitro ; et supposons que v_d représente 20 doses mortelles pour le lapin. Si nous injectons simultanément dans les veines du lapin v_d et v_s, il ne se produit pas d'accidents. Mêmes résultats sont obtenus si l'injection du sérum suit à court intervalle (10 à 20 min.) l'injection de la toxine. Si on avait attendu plus longtemps pour pratiquer l'injection du sérum, il faudrait forcer la dose pour parer aux accidents, injecter 2 v_s si 2 h, se sont écoulées, en injecter 3 v_s ou plus si 4 h. ont passé. Si le sérum n'est injecté qu'après l'apparition des premiers accidents diphtériques, il faudra, pour en arrêter la progression et les faire regresser, pour guérir l'animal par conséquent augmenter notablement la dose de sérum, la porter à 10 v_s à 20 v_s ou plus encore. Mais la guérison se produit, alors que la mort eût été l'inévitable conclusion de l'expérience si le sérum n'avait pas été injecté. On est autorisé ici à parler de pouvoir curatif.

Ce pouvoir curatif est limité d'ailleurs : si l'injection de sérum était faite très tardivement, alors que les accidents existant depuis quelque temps se sont fort aggravés, elle serait inefficace. Mais un insuccès se présentant aussi en fin de maladie ne suffit pas pour infirmer notre conclusion que le sérum antidiphtérique est curatif : aucun agent médicamenteux ne ressuscite un mort, ou même ne ramène à la vie un agonisant.

Ainsi se manifeste une *distinction entre les sérums antitétanique et antidiphtérique*. Tous deux sont antitoxiques, tous deux sont préventifs dans le cas où l'inoculation du sérum précède l'inoculation de la toxine. Pour le reste, ils diffèrent : le sérum antitétanique ne guérit pas le sujet présentant des accidents tétaniques, le sérum antidiphtérique peut guérir le sujet présentant des accidents diphtériques.

D'où il faut conclure que, dans les questions sérothérapiques, chaque sérum doit être étudié pour son compte, et que généraliser hâtivement et appliquer les résultats obtenus avec une toxine et le sérum correspondant à toutes les toxines et à tous les sérums antitoxiques est éminemment imprudent.

Troisième et dernier exemple, d'ailleurs fort instructif. Le venin de cobra injecté dans les veines du lapin à la dose de 2 mgr. le tue par paralysie type curare. Environ 10 à 11 min. après l'injection, la respiration se ralentit; 13 à 14 min. après l'injection, le cœur présente les troubles asphyxiques (ralentissement) : la respiration s'arrête à 18 à 20 min. ; la pression artérielle est tombée à zéro 22 à 24 min. après l'injection.

Pour neutraliser in vitro 2 mgr. de venin, il faut 3 c. c. de sérum anticobraïque. Si on injecte simultanément dans les veines du lapin ces quantités de venin et de sérum, aucun accident ne se produit.

Si on injecte d'abord le venin et ensuite le sérum, il faut distinguer. Si l'injection du sérum est faite alors que des accidents existent (donc à partir du moment, 10 min., où la respiration se ralentit), elle est absolument inefficace : les accidents se présentent au moment où ils se fussent présentés si l'on n'avait injecté que le venin, et la mort est là de 22 à 24 min. après l'injection du venin. — Si l'injection du sérum est faite durant la période d'incubation, deux cas sont à considérer, selon que l'injection est pratiquée dans la première ou dans la seconde moitié de cette période, donc avant ou après la minute 5. Si l'injection du sérum est faite pendant la seconde moitié de la période d'incubation, les animaux meurent, mais avec un retard de l'évolution des accidents, d'autant plus grand que l'injection a été plus précoce. Si l'injection du sérum est faite pendant la première moitié de la période d'incubation les animaux survivent, les uns après avoir présenté un peu de dyspnée temporaire (quand l'injection du sérum a été faite durant les 4e et 5e min.), les autres sans présenter aucun accident (quand l'injection du sérum a été faite durant les 3 premières minutes).

N'est-ce pas là la répétition exacte des faits déjà notés pour la toxine tétanique et le sérum antitétanique ? Et pourtant si nous concluons que le sérum anticobraïque n'est ni curatif ni pleinement préventif, notre conclusion sera inexacte.

Raisonnons un peu. Si l'antivenin neutralise instantanément le venin in vitro (nous l'avons établi ci-dessus), rien ne prouve qu'il agisse de même quand le venin injecté dans l'organisme a déjà agi sur les éléments anatomiques sensibles à son action ; peut-être l'antivenin ne saurait-il neutraliser le venin fixé sur les plaques motrices que lentement, et l'inefficacité du traitement sérothérapique de la cobraïsation que nous venons de reconnaître est-elle plus apparente que réelle, tenant exclusivement à ce que la mort par asphyxie est là avant que le sérum ait eu le temps de développer ses effets neutralisants. Or on peut suspendre ces accidents asphyxiques et leur conséquence, la mort, en pratiquant la respiration artificielle chez l'animal cobraïsé : peut-être le sérum anticobraïque manifesterait-il une action curative chez l'animal cobraïsé soumis à la respiration artificielle. Expérimentons maintenant.

Injectons dans les veines d'un lapin 2 mgr. de venin de cobra, et, avant que les accidents graves soient réalisés, pratiquons la respiration artificielle (abandonné à lui-même le lapin fût mort en 22 à 24 min.) ; l'animal survit tant qu'on maintient cette respiration. La paralysie type curare est totale, absolue, p. ex. 40 à 50 min. après l'injection du venin. A ce moment, injectons dans les veines 3 c. c. de sérum anticobraïque, et maintenons la respiration artificielle. Environ 3 h. 1/2 à 4 h. après l'injection du sérum, des mouvements spontanés apparaissent dans une partie limitée du corps (une patte p. ex.), d'abord peu étendus, puis de plus en plus puissants et de plus en plus généralisés. Un peu plus tard, 5 h. p. ex. après l'injection du sérum, la respiration spontanée s'accomplit suffisante : le lapin survit.

Or si on avait injecté à un lapin 2 mgr. de venin sans sérum, pratiquant chez lui la respiration artificielle comme ci-dessus, on aurait entretenu la vie des heures durant, mais on aurait constaté 5, 9 et 12 h. après l'injection du venin, que la paralysie curarique persistait dans sa plénitude. Le sérum anticobraïque a ainsi manifesté une action curative, au sens médical du mot, de la façon la plus typique.

L'action curative du sérum anticobraïque se peut manifester dans les conditions indiquées quelle que soit l'époque de l'injection du sérum pendant la survie assurée par la respiration artificielle. Qu'on l'injecte 10 ou 40 min., 1 ou 4 h. après le venin, il fait toujours disparaître la paralysie précocement, c'est-à-dire à un moment où elle subsisterait entière si le sérum n'avait pas été injecté.

L'action curative du sérum anticobraïque est du reste d'autant plus rapidement efficace que la quantité de sérum injectée est plus grande.

Si p. ex. on injecte le sérum à la minute 40, chez un lapin ayant reçu 2 mgr. de venin de cobra, aux doses de 2 c. c. 3/4, de 5 c. c., de 10 c. c. et de 20 c. c., les premiers mouvements réapparaissent 4 h., 3 h. 1/2, 2 h. 3/4 et 1 h. 1/2 plus tard.

L'analyse physiologique permet ainsi de *reconnaître au sérum anticobraïque une propriété curative indiscutable,* malgré les apparences contraires. Il conviendrait de rechercher s'il ne serait pas possible de trouver pour l'intoxication tétanique des procédés permettant au sérum antitétanique de manifester une action curative dans le tétanos réalisé. Il conviendrait de rechercher, ai-je dit ; mais il serait fort imprudent d'admettre à priori que cette action curative pourrait se produire. On ne saurait trop le répéter : tout ici est question d'espèces ; chaque sérum doit être étudié pour son compte ; les généralisations hâtives doivent être impitoyablement écartées, surtout en ce domaine.

Nous dirons même plus : nous venons de manifester l'action curative du sérum anticobraïque chez le lapin. Rien ne prouve, en l'absence d'expériences ou d'observations directes, que les choses se passeraient de même chez un autre animal, notamment chez l'homme : on peut le supposer, le désirer même, mais on aurait grand tort de l'affirmer dès maintenant.

D'où proviennent les antitoxines ? Aux dépens de quelles substances se forment-elles ? Dans quel organe et par quels mécanismes sont-elles engendrées ? Voilà des questions que nous devons laisser sans réponses. Car les théories qu'on a proposées, et en particulier la *théorie d'Ehrlich,* ne sont pas des réponses scientifiques ; ce ne sont que des rêveries.

Il importe toutefois d'en parler sommairement en raison de la considération en laquelle les ont tenues plusieurs auteurs contemporains.

On peut faire apparaître dans le sang d'un animal de nombreuses antitoxines distinctes, chacune étant spécifique, c'est-à-dire agissant sur la seule toxine utilisée pour sa préparation. On connaît des sérums antitétanique, antidiphtérique, antiricine, anticrotine, antirubine,

anticobraïque, anticrotalique, antibothropique ; et on pourrait sans doute en préparer beaucoup d'autres, tous spécifiques, correspondant aux nombreuses toxines (toxines microbiennes, venins, protéines toxiques), dont on peut disposer.

Cette multiplicité des antitoxines spécifiques suggère l'idée que *peut-être l'antitoxine n'est que la toxine modifiée par l'organisme*, sa spécificité traduisant précisément son origine.

A cette hypothèse nous ferons une objection. La quantité d'antitoxine présente dans un organisme hyperimmunisé peut être incomparablement plus grande que celle qui suffirait à neutraliser la totalité de la toxine injectée pendant tout le cours de la préparation : le sang d'un cheval fournisseur de sérum antidiphtérique peut neutraliser 100 000 fois la quantité de toxine diphtérique injectée à l'animal. Dira-t-on que peut-être la molécule de toxine s'est scindée en 100 000 molécules dont chacune est une molécule d'antitoxine ; nous répondrons que ce n'est pas là une explication, mais une seconde hypothèse greffée sur la première et qui risque de nous entraîner dans le domaine des illusions..... et sans doute des désillusions. Cette supposition (à savoir la pulvérisation moléculaire de la toxine engendrant l'antitoxine) est d'ailleurs contredite par un fait : on établit que la toxine est plus diffusible que l'antitoxine et que p. ex. la toxine dialyse faiblement, tandis que l'antitoxine ne dialyse pas du tout ; or les chimistes nous ont appris que la diffusibilité et la dialysabilité sont d'autant plus grandes que la molécule est moins volumineuse ou moins complexe : c'est donc que la molécule de l'antitoxine est plus grosse que la molécule de toxine et qu'on ne saurait la considérer comme résultant d'une fragmentation de celle-ci. Oh ! sans doute on pourrait tenter un replâtrage et imaginer que chacun des fragments minuscules de toxine s'est uni à quelque colossale molécule albumineuse pour former l'antitoxine, qui lui fait perdre sa dialysabilité. Mais nous ferons remarquer que c'est là une troisième hypothèse et non une explication (nous n'avons encore rencontré que des hypothèses en tout cela), et que c'est trop de trois hypothèses s'échafaudant l'une sur l'autre pour se soutenir. Mieux vaut s'arrêter que s'engager sur le dangereux chemin qui s'offre à nous.

Disons donc que l'hypothèse ainsi formulée : l'antitoxine résulte de la transformation de la toxine dans l'organisme, n'a pas reçu de justification expérimentale : elle demeure donc une hypothèse, c'est-à-dire une ombre, un rêve, un rien.

Quelques chercheurs ont énoncé une autre hypothèse. *La toxine injectée dans le cours de la préparation est un excitant qui provoque l'activité sécrétoire de quelque élément de l'organisme*, réagissant à cette excitation et formant, puis déversant dans les humeurs une antitoxine spécifique. Cette hypothèse semble satisfaire bon nombre de

bactériologistes; elle ne saurait satisfaire les physiologistes, qui, habitués à observer et analyser les réponses de l'organisme aux excitations, leur ont trouvé de tout autres caractères : il leur manque en particulier ce caractère de spécificité sur lequel nous avons tant insisté ici. Quand, p. ex. on introduit dans l'estomac d'un mammifère du lait de vache, une sécrétion se produit renfermant du labferment, agent diastasique de la caséification du lait ingéré. Si la caséification achevée, on retire le contenu gastrique pour en séparer par filtration le liquide, on constate que celui-ci est apte à provoquer in vitro la caséification, non pas seulement du lait de vache (sous l'influence duquel a été produit le labferment), mais d'un lait quelconque (de femme, ânesse, chienne, chèvre, etc.). Ce serait le même labferment dépourvu de spécificité qui serait produit si le lait introduit dans l'estomac avait été du lait de femme, d'ânesse, de chèvre, etc., etc.

Quand, exprimant en une courte formule l'ensemble de leurs innombrables observations, les physiologistes définissent l'irritabilité ou excitabilité, ne disent-ils pas : l'irritabilité ou excitabilité est cette propriété que possède le protoplasma vivant de réagir activement, sous l'inflence d'agents divers, mécaniques, physiques, chimiques, convenables, dits excitants, suivant un mode dépendant de sa constitution histologique. Les physiologistes donc soulignent en cette définition l'influence capitale de la constitution histologique sur la nature de la réaction ; mais ils ne parlent pas, que je sache, et pour cause, d'une influence exercée par la nature de l'excitant.

Aussi les physiologistes n'accepteront-ils pas d'enthousiasme cette seconde hypothèse des bactériologistes ; ils demanderont des justifications précises, d'autant plus que cette hypothèse ne s'accorde pas avec de nombreux faits biologiques bien constatés et dont nous avons cité un exemple ci-dessus. Comme la première, cette seconde hypothèse n'est qu'un rêve et même un rêve un peu extravagant. Mieux vaut se borner à enregistrer les faits et s'efforcer d'en observer de nouveaux ; l'interprétation viendra plus tard, quand la documentation positive sera suffisante.

Un mot encore à propos d'une théorie.... germanique, dite *théorie d'Ehrlich*, qui a été imaginée pour expliquer l'origine des antitoxines et beaucoup d'autres choses encore. En voici le point de départ. Les composés organiques peuvent présenter plusieurs fonctions chimiques distinctes : tel de ces composés est acide et amine : tel autre, acide et alcool, tel autre alcool et aldéhyde ; tels autres enfin sont pourvus d'un plus ou moins grand nombre de fonctions chimiques distinctes, grâce auxquelles ils présentent plusieurs catégories d'affinités et participent à plusieurs groupes de réactions : l'acide aminé peut s'unir aux bases minérales ou aux alcools pour former des sels ou des éthers,

puisqu'il est acide ; il peut aussi s'unir aux acides ou aux sels acides, puisqu'il est amine.

Chacune de ces fonctions correspond à certain groupement atomique contenu dans la molécule et que les chimistes ont coutume de représenter par des symboles chimiques. Le glycocolle, acide aminé est représenté par la formule $NH^2 — CH^2 — COOH$, qui indique à la fois sa composition centésimale, son poids moléculaire, et sa constitution, c'est-à-dire ses propriétés fondamentales : dans cette formule, on reconnaît le groupe NH^2 qui est le symbole des amines et le groupe COOH qui est le symbole des acides. D'une façon générale un acide aminé quelconque répond à la formule $NH^2 — R — COOH$, dans laquelle R représente un groupement atomique variable.

Ces groupes NH^2 et COOH (et tous autres correspondant à une fonction chimique) unis au groupement R sont dits *chaînes latérales* de la molécule. Tout corps organique possédant une chaîne latérale NH^2 peut se combiner à un acide, ou, si l'on veut, fixer et retenir attachée à sa molécule, grâce à cette chaîne latérale, une molécule acide ; tout corps organique possédant une chaîne latérale COOH peut se combiner à une base, ou, si l'on veut, fixer et retenir attachée à sa molécule, grâce à cette chaîne latérale, une molécule basique. C'est dire que les molécules chimiques possédant des chaînes latérales peuvent retenir des molécules chimiques diverses et d'autant de catégories qu'ils ont de chaînes latérales différentes. Les chaînes latérales des molécules organiques, peut-on dire, sont des agents de fixation chimique.

On imagine que les toxines, venins, etc. sont fixés sur les éléments anatomiques sensibles à leur action ; et on peut le démontrer, au moins approximativement, dans le cas particulier de la toxine tétanique. Cette toxine produit une exagération du pouvoir excito-reflexe de la moelle : elle est donc un poison nerveux ; or si on mélange une toxine tétanique avec une bouillie de tissu nerveux médullaire ou encéphalique in vitro, on constate que le liquide séparé par filtration a perdu tout ou partie importante de son pouvoir toxique, comme si la toxine qu'il renfermait primitivement s'était fixée sur le tissu nerveux. On pourrait, à coup sûr, faire maintes objections à la conclusion qu'on en tire, à savoir que la toxine en général se fixe sur les éléments dont elle altère le fonctionnement ; on pourrait faire remarquer que la bouillie nerveuse ne renferme pas seulement les cellules dont la toxine tétanique modifie le fonctionnement sur le vivant, mais encore beaucoup d'autres éléments anatomiques ; on pourrait faire remarquer que la toxine tétanique se fixe aussi sur les tissus ovarien et testiculaire malgré qu'elle ne semble pas les altérer fonctionnellement, etc. Mais nous ne nous proposons pas de faire la critique de la doctrine jusque dans les détails. Admettons cette hypothèse

de la fixation des toxines par les éléments sensibles à leur action comme valable.

Ceci posé, on assimile le protoplasma à une combinaison chimique organique complexe présentant plusieurs chaînes latérales, mieux vaudrait dire sans doute, hérissée de chaînes latérales de diverses natures et qualités. Parmi ces chaînes latérales il en serait quelqu'une ou quelques-unes qui auraient une affinité spéciale pour une toxine déterminée et qui la fixeraient, comme la chaîne latérale acide de l'acide aminé fixe la soude. A cette fixation, à cette modification chimique du protoplasma correspondraient les faits pathologiques de l'intoxication. Dans les intoxications légères un certain nombre seulement de ces chaînes latérales spécifiques seraient saturées de toxine, et les autres, celles qui demeuraient libres suffiraient à assurer le fonctionnement normal de l'élément cellulaire considéré, et par suite à assurer la fonction physiologique à laquelle il préside. Dans les intoxications graves, la totalité ou tout au moins le plus grand nombre de ces chaînes latérales spécifiques serait saturé de toxine, et l'élément anatomique, privé de ces chaînes latérales, ne saurait plus assurer ses fonctions normales : la mort en serait la nécessaire conclusion.

Peut-être n'est-il pas inutile d'ajouter, en insistant, que tout cela est purement et simplement hypothétique, ne reposant sur aucune preuve scientifique, ni même sur aucun commencement de justification scientifique. C'est en vérité une simple comparaison littéraire, plus ou moins bien choisie, et qui ne saurait avoir d'autre valeur que celle de préparer un esprit chimiquement éduqué à recevoir communication de certains faits biologiques, ou, si l'on veut encore, d'adoucir, la transition de la chimie à la biologie.

Mais il y a plus dans la théorie d'Ehrlich. On admet que, dans les intoxications légères, telles. p. ex., qu'on les réalise en cours d'immunisation, un certain nombre des chaînes latérales spécifiques étant neutralisées par la toxine, le protoplasma (on n'a pourtant pas osé dire ici, comme le ferait la molécule chimique) reconstruit d'autres chaînes latérales, pour remplacer celles qu'il a perdues, et en fabrique plus qu'il ne serait nécessaire pour réparer ses pertes : si bien qu'une intoxication légère, qui s'est traduite tout d'abord par un appauvrissement du protoplasma en chaînes latérales spécifiques, conduit en fin de compte, à un enrichissement de ce même protoplasma en chaînes latérales spécifiques. La seconde injection préparatoire, supposée faite à la même dose que la première, neutralise le même nombre de chaînes latérales spécifiques en laissant un certain nombre inaltérées, le protoplasma répare encore ses pertes et au delà. Tant et si bien que le protoplasma se couvre de tant et de tant de chaînes latérales spécifiques qu'il peut fixer d'énormes quantités de toxine, sans perdre

la totalité de ces chaînes, dont quelques-unes tout au moins lui sont nécessaires pour se maintenir vivant. D'autre part, quand le nombre des chaînes surabondantes dépasse une certaine limite, le protoplasma, en laisse tomber quelques-unes, puis d'autres, et d'autres encore dans le milieu ambiant, où elles représentent l'antitoxine du sérum et des humeurs, capables de fixer la toxine et de préserver le protoplasma, leur générateur, des atteintes de celle-ci.

Faut-il ajouter que tout cela ne représente qu'une image littéraire, et que tout est imagination pure. Nous doutons que ce petit roman chimico-biologique trouve parmi les chimistes des admirateurs passionnés. Cette molécule protoplasmique avec ses chaînes latérales plus ou moins nombreuses selon qu'elle en perd ou en crée à profusion, et pourtant toujours la même, les laissera probablement rêveurs. Il n'entre pas dans notre plan de présenter une critique méthodique de cette extravagante théorie d'Ehrlich. Nous nous bornerons à quelques remarques, qui montreront bien quelle en est la vanité.

Le venin de cobra et le venin d'hamadryas sont équivalents qualitativement et quantitativement. Ils déterminent notamment, employés à doses égales, les mêmes accidents paralytiques, produisant la mort par asphyxie ; ils agissent l'un et l'autre sur la plaque terminale dans les muscles striés; et quand on les mélange pour les injecter à un lapin, ils ajoutent arithmétiquement leurs effets. On peut donc imaginer, légitimement semble-t-il, qu'ils agissent sur les mêmes éléments anatomiques et de la même façon. Or, en pratiquant 8 à 10 injections sous-cutanées de venin d'hamadryas à dose non mortelle à 5 ou 6 jours d'intervalle chez le lapin, on réalise une immunité très manifeste vis-à-vis de ce venin. Si la conception d'Ehrlich est juste, si les deux venins agissent sur les mêmes chaînes latérales, l'animal immunisé contre le venin d'hamadryas, devrait être également et dans la même mesure immunisé contre le venin de cobra. L'expérience montre qu'il ne l'est pas du tout. Faut-il imaginer que le protoplasma contient des chaînes latérales pour le venin de cobra et d'autres pour le venin d'hamadryas (des chaînes cobraphiles et des chaînes hamadryaphiles), totalement indépendantes, ces dernières seules se multipliant dans l'immunisation hamadryasique ; nous ferons remarquer qu'il faut inventer d'autres chaînes encore pour tous les venins curarisants, vis-à-vis desquels l'animal immunisé contre le venin d'hamadryas, reste neuf ; et il y en a sans doute des dizaines et des dizaines, peut-être des centaines. Et cela fait vraiment beaucoup de chaînes latérales pour le seul protoplasma des plaques terminales !

Procédons autrement : immunisons le lapin par 8 à 10 injections sous-cutanées de venin de cobra faites à dose non mortelle à 5 ou 6 jours d'intervalle ; l'animal est nettement immunisé contre le venin de cobra (p. ex. contre 3 mgr. de venin de cobra). Mais il est aussi

légèrement immunisé contre le venin d'hamadryas (p. ex. contre 1/2 mgr.). Faut-il imaginer que, dans ce cas, la neutralisation des chaînes latérales cobraphiles par le venin injecté a provoqué la formation de nouvelles chaînes cobraphiles très abondantes et aussi de quelques chaînes hamadryaphiles; tandis que, précédemment quand nous préparions l'animal avec le venin d'hamadryas, seules les chaînes hamadryaphiles étaient multipliées. Voilà qui est singulièrement compliqué et étrange !

Enfin, on peut démontrer que le curare est toxicologiquement équivalent à tous ces venins curarisants et à chacun d'eux en particulier; qu'il ajoute ses effets arithmétiquement aux leurs; on peut admettre qu'il agit sur les mêmes éléments anatomiques et de la même façon que les venins. Or si l'on peut engendrer une immunité antivenimeuse, on n'engendre pas d'immunité anticurarique; si l'on fait apparaître des antitoxines venimeuses, on n'en fait pas apparaître d'anticurarique. Pourquoi, si le curare sature les mêmes chaînes latérales ?

Nous sommes autorisés, n'est-il pas vrai, à considérer la théorie d'Ehrlich comme dénuée de toute valeur scientifique; aussi n'en reparlerons-nous plus dans les prochains chapitres malgré que son inventeur et ses partisans, l'étendant et la développant, aient la prétention de la faire régner sur l'entière microbiologie et par delà les frontières de celle-ci sur la biologie tout entière.

Nous n'avons pas épuisé la liste des hypothèses qui ont été proposées pour expliquer les faits d'immunité antitoxique l'origine des antitoxines, etc. Mais à quoi bon s'y attarder : elles ne représentent que de très vagues rêveries, et nous estimons plus utile de traiter de réalités scientifiques. Si, exceptionnellement, nous avons parlé théories, c'était surtout pour en montrer la vanité.

CHAPITRE X

L'ANAPHYLAXIE

SOMMAIRE. — Le phénomène de Richet. — Anaphylaxie du chien par et pour les congestines. — Choc anaphylactique, crise d'anaphylaxie. — La réaction d'anaphylaxie n'est pas une manifestation d'accumulation toxique. — Incubation d'anaphylaxie. — Anaphylaxie passive. — Spécificité de l'anaphylaxie du chien. — Le phénomène d'Arthus ou séro-anaphylaxie du lapin : accidents locaux, accidents généraux, accidents tardifs. — Distinction provisoire de l'anaphylaxie type congestine et de la séro-anaphylaxie. — Analyse des faits de la crise séro-anaphylactique : chute de pression et anurie, diminution de la coagulabilité du sang. — Du nombre d'injections nécessaire pour obtenir la séro-anaphylaxie ; du renforcement de l'anaphylaxie sérique. — Incubation de la séro-anaphylaxie, sa durée ; anaphylaxie croissante, anaphylaxie constante. — Réactions frustes d'anaphylaxie. — Des voies d'introduction du sérum dans la préparation et l'essai d'anaphylaxie. — Ovo, gélatino, pepto-anaphylaxies. — Les substances anaphylactisantes et les substances toxiques sont les protéines : protéo-anaphylaxies. — Non-spécificité de l'anaphylaxie du lapin : anaphylaxies homologue et hétérologue. — Anaphylaxie et précipitation ; indépendance des deux réactions. — Quelques remarques physiologiques sur les accidents de la crise de séro-anaphylaxie et applications pratiques. — Séro-anaphylaxie du chien : la crise séro-anaphylactique : chute de pression, incoagulabilité du sang. — Parallèle de la crise séro-anaphylactique chez le lapin et chez le chien. — Séro-anaphylaxie passive du chien. — Protéo-anaphylaxies du chien : spécificité des anaphylaxies du chien. — Pepto-anaphylaxie du chien. — Identification des deux anaphylaxies provisoirement séparées, anaphylaxie par congestines et séro-anaphylaxie. — Réaction séro-anaphylactique et intoxication peptonique du chien. — Séro-anaphylaxie du cobaye : ses particularités, son instabilité. — Désanaphylaxie ou antianaphylaxie : conditions de sa production chez le cobaye : faits spéciaux au cobaye. — L'anti anaphylaxie est une anaphylaxie masquée. — Anaphylaxie par les venins : venin de Cobra et phénomènes protéotoxiques. — Cas du venin de Daboïa et faits de coagulation sanguine. — Anaphylaxie venimeuse passive et sa non-spécificité.

Pourquoi et comment se pose la question des rapports de l'anaphylaxie et de l'immunité. — Enoncé du problème. — Injections répétées de venin de Cobra, et de venin de Crotalus adamanteus. — Anaphylaxie-immunité. — Etude de l'immunisation anticobraïque du chien : anaphylaxie précoce, immunité tardive. — Les propriétés anaphylactisante et immunisante du sérum de chien préparé par le venin de Cobra. — Injections longuement répétées de sérum de cheval chez le chien : phase d'anaphylaxie, phase d'immunité non anaphylactique : remarques sur les deux immunités, naturelle et acquise. — Injections répétées de venin de Crotalus adamanteus chez le lapin : anaphylaxie de début, immunité tardive, en réalité anaphylaxie-immunité. — De l'intrication des faits d'anaphylaxie et d'immunité. — Rapports de l'anaphylaxie et de l'immunité. — Toute immunité n'est pas précédée d'anaphylaxie. — L'immunité du lapin est spécifique, l'anaphylaxie ne l'est pas. — L'immunité et l'anaphylaxie sont deux états biologiques distincts.

Les extraits glycérinés de *tentacules d'actinies,* de *moules,* d'*éponge* (Suberites domuncula), le latex d'une euphorbiacée, *Hura crepitans* sont toxiques pour le chien en injection sous-cutanée, et, pour une dose suffisante, déterminent la mort. Si la dose injectée ne suffit pas pour tuer l'animal, mais le rend malade quelques jours (le chien recouvre la santé parfaite au plus tard 4 ou 5 jours après l'injection), on constate qu'une seconde injection faite tardivement (un mois p. ex. après la première), à la même dose que la première, ou même à une dose notablement moindre, (capable tout juste d'engendrer des accidents légers et peu durables chez le chien neuf) suffit pour provoquer la mort, ou tout au moins des accidents extrêmement graves. *La première injection de l'un de ces poisons a sensibilisé le chien à leur action toxique.* On dit que le chien a été *anaphylactisé,* ou est en *état d'anaphylaxie* (C'est là le *phénomène de Ch. Richet*).

Ces divers poisons ont été appelés *congestines* ; on rappelle ainsi l'une des actions qu'ils exercent, l'action congestive, manifestée pendant la vie par des selles sanguinolentes et à l'autopsie par des congestions viscérales souvent poussées jusqu'aux hémorragies. Les congestines provoquent les mêmes accidents chez les chiens neufs et chez les anaphylactisés ; ils sont toutefois exagérés et parfois compliqués de quelques manifestations complémentaires chez ces derniers. Comme ces accidents se produisent plus brusquement chez les chiens anaphylactisés que chez les chiens neufs (accidents foudroyants), on a

parlé de *choc anaphylactique*, pour bien marquer le caractère de soudaineté d'apparition. Le retour à la santé, après la crise, se fait assez rapidement (quelques heures), ce qui a conduit à parler de *crise d'anaphylaxie*.

L'anaphylaxie n'est pas une manifestation d'*accumulation toxique* (on connaît l'action cumulative de la digitale p. ex.), la seconde injection ajoutant son effet toxique à celui de la première, pour deux raisons. 1° Si on injecte à un chien neuf 1 cgr. d'actinocongestine par kg., on détermine des accidents à peine perceptibles; si, un mois plus tard, on renouvelle l'injection à la même dose, on tue l'animal; or l'injection de 2 cgr. de poison à un chien neuf ne provoque que des accidents très faibles. 2° Si on injecte à un chien neuf 1 cgr. d'actinocongestine par kg. et si, 8 jours plus tard (et non plus 1 mois), on renouvelle l'injection à la même dose, les accidents ne sont pas plus graves que ceux déterminés par la première injection : dira-t-on que l'effet cumulatif, qui ne se produit pas au 8e jour, se produira le 30e ? Ce serait absurde.

Par là s'est manifestée la période d'*incubation d'anaphylaxie*; elle varie, semble-t-il, avec la substance toxique, mais n'est pas inférieure à 10 jours. A partir de la fin de la période d'incubation, on peut considérer une période d'anaphylaxie croissante (1 à 2 semaines), durant laquelle la sensibilité de l'animal à l'action toxique croît progressivement, suivie d'une période d'anaphylaxie constante, se maintenant pendant très longtemps (des mois à coup sûr, peut-être des années).

Pour déterminer l'anaphylaxie il faut injecter la congestine par *voie parentérale* (sous la peau, dans les muscles, dans le péritoine, dans les veines), mais non par voie digestive; pour provoquer la crise d'anaphylaxie, il faut injecter la congestine par *voie parentérale* encore et particulièrement dans les veines.

Si on injecte par voie parentérale à un chien neuf le sérum d'un chien anaphylactisé par et pour une congestine déterminée, on anaphylactise le chien neuf pour la même congestine. Ainsi est créée une *anaphylaxie passive*, se révélant, comme l'*anaphylaxie active* dont nous parlions ci-dessus, par l'exagération de la sensibilité à l'action toxique de la congestine, mais différant de l'anaphylaxie active : 1° parce qu'elle existe aussitôt après l'injection du sérum; 2° parce qu'elle ne dure que peu de temps (2 à 3 semaines environ), disparaissant progressivement.

Les anaphylaxies active et passive du chien par et pour les congestines sont *spécifiques*, c'est-à-dire que seule est apte à provoquer la crise la congestine utilisée pour la préparation de l'animal anaphylactisé activement ou de l'animal fournisseur du sérum anaphylactisant.

Une remarque. Nous avons implicitement fait une sorte de *parallèle*

entre l'anaphylaxie et l'immunité en employant les expressions que nous avons adoptées. Nous avons parlé antérieurement d'immunité antitoxique active produite par l'injection de toxine chez l'animal neuf, et d'immunité antitoxique passive produite par injection à un animal neuf du sérum d'animal activement immunisé. Nous avons noté la longue persistance de l'immunité active, la courte durée de l'immunité passive ; nous avons reconnu la spécificité de l'immunité. N'insistons pas actuellement sur ces rapprochements ; nous y reviendrons.

Si, chez le *lapin,* on injecte par voie parentérale du *sérum de cheval,* frais ou conservé, chauffé à 57° ou non chauffé, à faible dose ou à dose considérable, il ne se produit pas d'accidents précoces ou tardifs : le sérum de cheval est inoffensif pour le lapin. Si on répète à quelques jours d'intervalle cette injection sérique, on constate qu'après quelques injections, le sérum produit, même à faible dose, des accidents, qui, selon le degré de préparation de l'animal, sont légers ou graves, qui, selon la voie d'introduction, sont locaux ou généraux, immédiats ou tardifs : le sérum de cheval est toxique pour le lapin préparé, ou sensibilisé, ou anaphylactisé par et pour le sérum de cheval (*phénomène d'Arthus*). Les injections répétées de sérum de cheval pratiquées chez le lapin ont engendré un état d'anaphylaxie, ou pour mieux préciser de *séro-anaphylaxie.*

Nous venons de parler d'accidents divers produits par l'injection de sérum de cheval chez le lapin séro-anaphylactisé : voici des précisions.

Un lapin reçoit tous les 6 jours 5 c.c. de sérum de cheval sous la peau de la paroi abdominale. Lors des 3 premières injections, la résorption du sérum se fait en quelques heures ; aprè sla 4e injection, il se produit une infiltration molle, persistant 2 ou 3 jours ; après la 5e, l'infiltration est plus dure, œdémateuse et ne se résorbe qu'en 5 ou 6 jours ; après la 6e, l'infiltration œdémateuse se transforme rapidement en une altération profonde du tissu cellulaire sous-cutané, qui donne une masse épaisse, compacte, blanche (aseptique, et qui n'est pas du pus), persistant inaltérée pendant des semaines ; après la 7e, les mêmes modifications se produisent en s'accentuant ; la peau recouvrant l'empâtement rougit d'abord, puis blanchit et se dessèche : il se produit une plaque de gangrène, dont les tissus s'éliminent

lentement (plusieurs semaines), en laissant largement ouverte une plaie anfractueuse, profonde, se cicatrisant péniblement. L'état général de l'animal est de coutume demeuré bon. Voilà pour les accidents locaux.

Un lapin a été préparé par 6 à 7 injections sous-cutanées de 5 c.c. de sérum de cheval; il présente les accidents locaux ci-dessus décrits. On injecte dans les veines 5 c.c. de sérum de cheval. Après 1 min. environ, le lapin secoue la tête, comme pour éternuer, puis devient anxieux et agité, puis se couche sur le ventre : sa respiration devient polypnéique (200 à 250 par min., au lieu de 50 à 60 chez le lapin normal), mais non dyspnéique; elle est superficielle et régulière ; elle ne comporte pas de mouvements costaux ou faciaux exagérés. Des bols fécaux sont évacués en grande abondance. Parfois et le plus souvent ces accidents persistent quelque temps (1/2 h. ou 3/4 d'h.), puis disparaissent totalement et rapidement. Parfois, et plus rarement le lapin se couche sur le flanc (2 à 3 min. après l'injection du sérum), renverse la tête en arrière, fait avec les pattes des mouvements de course, puis demeure immobile cessant de respirer : après une courte pause, pendant laquelle se produit de l'exophtalmie (réflexe cornéen aboli), le lapin fait 4 ou 5 bâillements asphyxiques, puis il reste inerte. Le tout n'a généralement pas duré plus de 4 min. La cage thoracique étant rapidement ouverte, on constate que les ventricules sont arrêtés en systole, que les oreillettes présentent encore quelques faibles contractions, que le sang est liquide dans les vaisseaux. Voilà pour les accidents généraux précoces.

Le lapin qui, après avoir présenté les premiers accidents de la crise, a rapidement repris son état normal, semble d'abord parfaitement guéri. Mais, quelques jours plus tard, il devient cachectique : il est amaigri, son squelette soulève partout la peau, le poil est sec, hérissé, tombant par places, la peau est écailleuse ; l'œil est terne, l'oreille est pendante. Le sang contient de nombreux leucocytes, les hématies sont diminuées de nombre, le taux de l'hémoglobine a baissé. Le lapin meurt dans le marasme après plusieurs semaines sans avoir présenté d'accidents aigus. Voilà pour les accidents tardifs.

Ce ne sont pas là manifestations d'*accumulation sérique* dans l'organisme du lapin, car l'injection sous-cutanée ou intraveineuse de 40 c. c. de sérum de cheval, pratiquée d'un coup chez l'animal neuf, ne produit aucun accident, tandis que tous les accidents ci-dessus décrits s'observent si on injecte 2 c. c. à chaque injection, c'est-à-dire pour une quantité totale de sérum moindre que 20 c. c.

La *brusquerie des accidents* et leur *violence,* quand le

sérum est injecté dans les veines du lapin préparé, conduisent à parler de *choc séro-anaphylactique* ; la disparition rapide et totale des accidents généraux (au moins pour quelques jours), chez les animaux qui survivent au choc, conduisent à parler de *crise séro-anaphylactique.*

Est-il légitime, dès maintenant, de désigner sous le nom d'anaphylaxie les phénomènes décrits chez le lapin, les rapprochant ainsi des phénomènes antérieurement décrits chez le chien. Sans doute, dans les deux cas, on constate des faits qui sont le contraire de l'immunité (et c'est la signification du mot anaphylaxie). Mais dans le premier, c'est une substance toxique ; dans le second, c'est une substance non toxique qui devient toxique : ce n'est pas tout à fait la même chose. Dans le premier cas, nous constatons l'anaphylaxie lors de la seconde injection ; dans le second, nous considérons des animaux ayant reçu un certain nombre d'injections préparatoires : ne convient-il pas de faire des réserves sur la légitimité de l'emploi du mot anaphylaxie dans le second cas? Provisoirement donc il est prudent de ne pas identifier ces deux anaphylaxies et de distinguer l'anaphylaxie pour les congestines et la séro-anaphylaxie. Nous reconnaîtrons d'ailleurs à mesure que se dévoileront des faits nouveaux que ce ne sont que deux manifestations d'un seul et même état organique.

Nous avons décrit les faits directement observables de la crise de séro-anaphylaxie du lapin ; à ces phénomènes peuvent en être adjoints quelques autres, *révélés par l'analyse physiologique,* p. ex. la *chute de la pression artérielle* et la *diminution de la coagulabilité du sang.*

L'injection intraveineuse de sérum de cheval ne provoque aucun changement de la pression artérielle chez le lapin neuf; elle détermine, chez le lapin séro-anaphylactisé, *une chute de pression précoce, brusque, considérable, temporaire,* et sa conséquence l'*anurie* ou oligurie. L'injection intraveineuse de sérum de cheval ne modifie pas la *coagulabilité du sang* chez le lapin neuf; elle la *diminue* très fortement chez le lapin séro-anaphylactisé.

Un lapin a reçu de 7 jours en 7 jours 6 injections sous-cutanées de 5 c.c. de sérum de cheval. On injecte en 1/4 min. 5 c.c. de sérum de cheval dans ses veines. La pression artérielle était de 104 mm. de mercure avant l'injection ; elle s'y maintient 1/2 min. après la fin de l'injection, puis s'abaisse brusquement, mettant 20 sec. pour tomber

à 38 mm., elle s'y fixe pendant 20 min., puis, lentement mais progressivement, elle remonte pour atteindre 96 mm., c'est-à-dire une valeur voisine de la normale, 3/4 d'h. environ après l'injection. La sécrétion urinaire a été tarie durant les 20 à 25 min. suivant l'injection ; elle ne s'est ensuite manifestée qu'à partir du moment où la pression artérielle a dépassé 40 mm., d'abord extrêmement faible, puis de plus en plus abondante à mesure que remontait la pression.

Le sang de lapin neuf ayant reçu une injection intraveineuse de sérum de cheval, retiré de la carotide de 5 à 30 min. après l'injection, et amené par un tube de caoutchouc de l'artère dans une capsule de porcelaine coagule en bloc en 10 à 15 min. Le sang de lapin séro-anaphylactisé ayant recu la même injection de sérum, et recueilli dans les mêmes conditions ne coagule pas en bloc avant 1 h., 1 h. 1/2 ou plus ; les premiers flocons fibrineux n'apparaissent, au fond de la capsule, que 40 min. environ après la prise, la coagulation en bloc ne se faisant pas brusquement comme pour le sang du lapin neuf, mais lentement et pour ainsi dire péniblement.

Jusqu'ici nous avons considéré des lapins préparés par une série d'injections de sérum de cheval. Mais *on peut anaphylactiser le lapin par une seule injection préparatoire*. Toutefois, dans ce cas, la crise d'anaphylaxie qu'on déclenche, en injectant du sérum de cheval dans les veines, est généralement *atténuée en grandeur et en durée*, et *quelques-uns des éléments de la crise typique* ci-dessus décrite *font ou peuvent faire défaut*. Il y a donc des *degrés en séro-anaphylaxie*, et, ajouterons-nous, les injections répétées de sérum *renforcent l'anaphylaxie* créée par une première injection.

Un lapin a reçu une seule injection sous-cutanée de 5 c.c. de sérum de cheval. On lui injecte dans les veines, 3 semaines plus tard, 5 c.c. de sérum de cheval. Durant 1 min., la pression artérielle se maintient à 116 mm., valeur qu'elle avait avant l'injection. Elle s'abaisse alors lentement, mettant 4 min. pour descendre à 54 mm., valeur qu'elle conserve 10 à 12 min., puis elle remonte pour atteindre 108 mm. 30 min. après l'injection. La respiration était au rythme de 50 par min. ; elle s'accélère à partir de la min. 1 progressivement, atteint un maximum (210) à la min. 5, puis revient lentement au rythme primitif (50) qu'elle reprend 16 min. après l'injection. La coagulation est retardée (1 h. après la prise). Il n'y a pas eu expulsion de bols fécaux. Il ne se développe pas de cachexie dans les

semaines qui suivent l'injection. Si on injecte du sérum de cheval sous la peau de ce lapin, le jour de cet essai, il ne se produit ni lésions locales, ni même œdème temporaire.

L'injection sous-cutanée de sérum de cheval *ne confère pas instantanément l'anaphylaxie* au lapin. Si en effet, dans les premiers jours qui suivent cette unique injection préparatoire, on injecte dans les veines du lapin préparé du sérum de cheval, il ne se produit aucun accident même très léger, les choses se passant exactement comme si l'injection intraveineuse était faite chez un lapin neuf. Les réactions séro-anaphylactiques les plus précoces qu'on ait enregistrées chez le lapin sont du 7e ou 8e jour après l'injection (7e jour, si l'injection préparatoire a été très abondante, 40 à 50 c. c. p. ex. ; 8e jour, si elle a été moins abondante 5 c. c. p. ex.). A ce moment d'ailleurs, on ne note qu'une chute de pression modérée et peu durable, et un faible retard de coagulation du sang ; tous les autres phénomènes manquent.

Un lapin a reçu sous la peau 40 c.c. de sérum de cheval. Après 7 jours révolus, on injecte 4 c.c. de sérum de cheval dans ses veines. La pression avait une valeur de 106 mm. avant l'injection ; elle commence à fléchir 1/2 min. après l'injection pour descendre à 94 mm., valeur minima, 4 min. après l'injection ; elle s'y maintient jusqu'à la fin de la 8e min., puis elle remonte et reprend la valeur de 106 mm. 11 min. après l'injection. Le sang recueilli dans une capsule de porcelaine coagule en 40 min., donc avec un retard très net. Il n'y a eu ni accélération respiratoire, ni expulsion de bols fécaux ; il ne se produit pas de cachexie dans la suite.

Donc, après une *période d'incubation* de 7 à 8 jours, l'anaphylaxie s'établit, très faible tout d'abord, puis, sans qu'il faille renouveler l'injection préparatoire, elle s'accentue jusqu'à atteindre une valeur maxima, à laquelle elle se fixe 2 à 3 semaines après l'injection, pour s'y maintenir au moins pendant de longs mois. On distinguera donc, après la *période d'incubation*, une *période d'anaphylaxie croissante*, puis une *période d'anaphylaxie constante*.

Au début de la période d'anaphylaxie croissante, *la crise*

se montre fruste: ce sont d'abord le fléchissement de la pression et le retard de coagulation du sang qui représentent exclusivement les symptômes de la crise (fléchissement d'ailleurs minime, et retard faible). Plus tard, à ces phénomènes de début s'ajoute le changement du rythme respiratoire, sous forme d'accélération d'abord, de polypnée ensuite. Plus tard enfin, l'expulsion de bols fécaux vient compléter la crise. Ainsi constituée la crise est encore incomplète : elle ne devient maxima que si on renouvelle, à intervalles de quelques jours, l'injection préparatoire à plusieurs reprises : alors seulement on peut noter la cachexie tardive, les accidents locaux et parfois la mort foudroyante.

Pour créer l'état d'anaphylaxie, il suffit d'injecter sous la peau du lapin une *très petite quantité de sérum de cheval* (1/10 c. c. p. ex.) ; mais la crise d'anaphylaxie provoquée par injection intraveineuse de sérum de cheval est plus faible, toutes conditions égales, chez les lapins préparés par des doses minuscules de sérum de cheval que chez les lapins préparés par de plus fortes doses.

On peut créer la séro-anaphylaxie également bien, qu'on injecte le sérum sous la peau, dans les muscles, dans le péritoine ou dans les veines ; on ne la crée pas en introduisant le sérum dans la cavité du tube digestif : *l'anaphylaxie ne succède qu'à l'introduction parentérale du sérum.* On peut aussi provoquer la crise d'anaphylaxie en introduisant le sérum dans la cavité péritonéale, dans les muscles, ou sous la peau du lapin préparé (et non plus dans les veines) ; mais alors la chute de pression est moins précoce (il faut quelques minutes pour noter le début du fléchissement de la pression), moins brusque (la pression atteint plus lentement sa valeur minima), un peu moins profonde et un peu moins durable ; et la crise est moins complète (l'expulsion de bols fécaux manque généralement). Mais on ne provoque pas la crise d'anaphylaxie en introduisant le sérum dans la cavité du tube digestif. C'est l'*injection intraveineuse* qui est la *méthode de choix* ; c'est elle qui permet de manifester au mieux l'état d'anaphylaxie.

Nous n'avons pas épuisé l'histoire de la séro-anaphylaxie du lapin, et il importerait de fixer la nature des substances anaphylactisantes et révélatrices d'anaphylaxie contenues dans le sérum, de démontrer l'existence d'une séro-anaphylaxie passive, etc. Nous y reviendrons plus utilement dans la suite.

Le sérum de cheval n'est pas la seule liqueur apte à engendrer l'anaphylaxie du lapin ; on peut lui substituer pour la préparation de l'animal et pour l'injection d'essai maintes autres liqueurs, p. ex. du *lait dégraissé,* du *blanc d'œuf*, une solution de *gélatine* ou de *peptone,* de la *salive* mixte humaine, etc., toutes liqueurs qui, injectées sous la peau, dans les muscles, dans le péritoine ou dans les veines de lapins neufs sont aussi inoffensives que le sérum de cheval, mais qui, injectées chez un animal préparé par une ou plusieurs injections préalables de la même liqueur, provoquent des accidents, qui sont la répétition des accidents de séro-anaphylaxie.

L'injection sous-cutanée de blanc d'œuf au tiers (1 vol. de blanc d'œuf et 2 vol. d'eau salée), d'une solution de gélatine à 10 % ou d'une solution de peptone à 5 % ne produit pas d'accidents locaux. Mais si on répète l'injection 6 à 8 fois, à intervalles d'une semaine, on constate, au niveau de la dernière injection, des lésions de gangrène avec infiltrations purulentes aseptiques des plans musculaires, quand il s'agit de blanc d'œuf; des masses de pus aseptique, épais et crémeux quand il s'agit de solution de gélatine ; des empâtements, quand il s'agit de solutions de peptone : donc toujours des accidents locaux, dont la gravité seule varie selon la substance injectée.

L'injection intraveineuse de ces 3 liqueurs, qui ne produit aucun accident chez le lapin neuf, en détermine chez le lapin préparé par la même liqueur, et qui sont les accidents mêmes de la réaction générale de séro-anaphylaxie : chute de pression, accélération respiratoire, émission de bols fécaux, diminution de la coagulabilité du sang. On a même reconnu, chez les lapins à gélatine, une cachexie tardive identique à la cachexie séro-anaphylactique.

Nous sommes donc autorisés à rapprocher de la séro-anaphylaxie une *ovo-anaphylaxie,* une *gélatino-anaphylaxie,* une *pepto-anaphylaxie,* qui n'en diffèrent ni quant aux conditions d'établissement (période d'incubation, phase d'anaphylaxie croissante, phase d'anaphylaxie constante,

etc.), ni quant aux manifestations essentielles (accidents locaux, chute de pression, accélération respiratoire et polypnée, émission de bols fécaux, etc.). Tout au plus convient-il de noter que, dans l'une ou l'autre de ces anaphylaxies, le tableau est un peu moins complet, que les lignes en sont un peu moins accentuées qu'en séro-anaphylaxie. Ce sont là du reste de simples différences quantitatives et nous en avons trouvé d'aussi grandes dans la seule séro-anaphylaxie selon que l'injection préparatoire était unique ou avait été répétée, selon que l'essai était précoce ou tardif, etc. En vérite toutes ces anaphylaxies sont équivalentes entre elles et équivalentes à la séro-anaphylaxie. Au point où nous en sommes, nous pouvons résoudre élégamment plusieurs problèmes, dont la solution eût été pénible et sans doute imparfaite, si nous n'avions pas dépassé les limites de la séro-anaphylaxie.

Le sérum de cheval injecté par voie parentérale chez le lapin produit l'état d'anaphylaxie : *quelle est dans le sérum, ou quelles sont dans le sérum la ou les substances anaphylactisantes ?*

Supposons qu'on débarrasse le sérum de cheval de ses protéines en totalité, soit en précipitant celles-ci par le sulfate d'ammoniaque dissous à saturation, soit en les coagulant à 100° en présence de 20 à 30 °/₀ de chlorure de sodium, la liqueur désalbuminée, séparée du précipité ou du coagulum par filtration, n'anaphylactise pas le lapin auquel on l'injecte par voie parentérale pour le sérum de cheval. *La substance anaphylactisante a suivi le sort des protéines du sérum.*

Supposons que nous redissolvions dans l'eau le précipité des protéines engendré par le sulfate d'ammoniaque, nous obtenons une liqueur capable d'anaphylactiser le lapin pour le sérum de cheval ; et nous répéterons, la substance anaphylactisante suit le sort des protéines du sérum. Ajoutons que le précipité de sérumglobuline ou le précipité de sérumalbumine qu'on peut retirer du sérum de cheval par les procédés classiques, fournissent des solutions aqueuses capables l'une et l'autre d'anaphylactiser le lapin pour le sérum de cheval.

Cela ne prouve pas certes que les substances anaphylactisantes sont les *protéines du sérum,* car elles pourraient être simplement entraînées et fixées par les protéines précipitées ou coagulées, sans être identiques à ces protéines ; mais, au moins peut-on dire que, si les substances anaphylactisantes étaient réellement les protéines du sérum, les choses se passeraient comme elles se passent en effet.

Nous allons pouvoir mieux préciser grâce aux faits d'ovo, de gélatino et de pepto-anaphylaxie. Diluons le sérum de cheval ou le blanc d'œuf de poule en leur ajoutant 4 à 5 vol. d'eau distillée ; nous pouvons les porter à 100° sans y voir se former de coagulum. Chauffons de même à 100° les solutions de gélatine et de peptone ; on sait qu'elles ne sont pas modifiées. Or, de ces 4 liqueurs, les deux premières ont perdu la propriété d'anaphylactiser le lapin respectivement pour le sérum de cheval et pour le blanc d'œuf de poule ; les deux derniers anaphylactisent le lapin respectivement pour la gélatine et pour la peptone. N'en résulte-t-il pas que les substances anaphylactisantes ne sont pas toujours et partout les mêmes puisqu'ici elles ont résisté et que là elles ont succombé à l'ébullition. Or on sait que l'ébullition modifie et transforme les protéines du sérum et du blanc d'œuf (et cette modification nous est révélée par la coagulation qui se produit quand les conditions, et en particulier la salure du milieu, le permet), tandis qu'elle ne transforme ni la gélatine ni la peptone. N'est-ce pas là une bonne raison pour conclure que *les substances anaphylactisantes sont les protéines elles-mêmes* ?

Ajoutons, pour confirmer cette conclusion, que toute liqueur protéique est anaphylactisante, quelle qu'elle soit : nous avons cité tout à l'heure le lait (même bouilli, même autoclavé à 120° — la caséine n'est pas coagulé dans ces conditions) et la salive humaine (même bouillie, — la mucine salivaire n'est pas modifiée à 100°) ; on en pourrait donner d'autres exemples.

Nous dirons donc que les *substances anaphylactisantes* du sérum, du blanc d'œuf, etc., sont les *protéines* qu'ils contiennent. De même nous dirons que les *substances* du sérum, du blanc d'œufs, etc., *toxiques* pour les animaux anaphylactisés sont les *protéines* de ces liqueurs.

Le sérum de cheval, débarrassé de ses protéines en totalité par le sulfate d'ammoniaque dissous à saturation à la température ordinaire, ou par le chlorure de sodium dissous à saturation à 100°, n'est pas toxique pour le lapin séro-anaphylactisé ; tandis que les globulines et les albumines de ce sérum précipitées par des sels convenablement choisis fournissent les liqueurs toxiques pour le lapin séro-anaphylactisé. Ajoutons que les solutions de gélatine ou de peptone et le lait conservent leur toxicité après ébullition pour les lapins gélatino, pepto ou lacto-anaphylactisés (les protéines correspondantes ne sont pas modifiées à 100°), tandis que le sérum et le blanc d'œuf, dont les protéines sont transformées à 100°, perdent leur toxicité pour les lapins séro ou ovo-anaphylactisés, quand on les a fait bouillir.

Ces résultats conduisent à désigner sous le nom de *protéo-anaphylaxies* les anaphylaxies dont il a été question ci-dessus : *séro, lacto, ovo, gélatino, pepto, salivo*-anaphylaxie, toutes sont des protéo-anaphylaxies.

Nous avons indiqué précédemment que les anaphylaxies pour congestines du chien sont *spécifiques*, c'est-à-dire que seule est capable de provoquer la crise anaphylactique la substance ayant servi à la préparation de l'animal. *Les protéo-anaphylaxies du lapin sont-elles* également *spécifiques ?*

Si on injecte dans les veines d'un lapin séro-anaphylactisé du lait, du blanc d'œuf, de la gélatine, de la peptone, etc., la crise éclate avec ses caractères typiques et avec l'intensité qu'elle eût présentée si l'animal avait été préparé par la substance injectée : la réaction ne se révèle spécifique ni qualitativement ni quantitativement. — De même les lapins lacto, ovo, gélatino, pepto-anaphylactisés réagissent à l'injection intraveineuse de sérum de cheval comme le ferait le lapin séro-anaphylactisé : la dépression, la polypnée, l'expulsion des bols fécaux sont aussi considérables et aussi durables qu'elles l'eussent été chez le lapin séro-anaphylactisé ; la cachexie tardive ne fait pas défaut ; les accidents locaux apparaissent et évoluent normalement, identiques qualitativement et quantitativement à ce qu'ils sont quand l'injection sous-cutanée de sérum est faite chez le lapin fortement séro-anaphylactisé.

Peut-être conviendrait-il, pour la bonne tenue scientifique des exposés, de parler de réaction d'*anaphylaxie homologue* et de réaction d'*anaphylaxie hétérologue,* selon que les accidents sont provoqués par la substance ayant servi à la préparation anaphylactique ou par une autre substance ; mais, homologue ou hétérologue, la réaction ne diffère pas.

Et ceci nous amène à répéter une remarque déjà faite. Avons-nous le droit de considérer les anaphylaxies par congestine du chien et la séro-anaphylaxie du lapin ou plus généralement les protéo-anaphylaxies du lapin, comme révélatrices d'une même modification organique ? Les faits que nous venons d'exposer, et notamment la spécificité des uns, la non-spécificité des autres, nous obligent, provi-

soirement tout au moins, à distinguer ces deux catégories d'anaphylaxies. Nous y reviendrons plus tard.

Nous allons pouvoir, grâce aux notions que nous avons acquises, éliminer une erreur, qu'on a renouvelée à maintes reprises et qu'on renouvelle presque périodiquement. Nous établirons ci-dessous que l'injection d'une liqueur protéique fournie par un animal d'espèce A, dans l'organisme d'un animal d'espèce B, surtout quand elle est renouvelée 3 ou 4 fois à quelques jours d'intervalle, communique au sérum de B la propriété de précipiter in vitro la liqueur protéique qui a servi à la préparation de B, au moins quand cette liqueur est du sérum, du lait, du blanc d'œuf, un extrait d'organe (mais non quand la liqueur est une solution de gélatine ou de peptone). Notons, en insistant, que la réaction est rigoureusement spécifique, c'est-à-dire que le sérum de B ne précipite que la liqueur ayant servi à la préparation (le lait p. ex.) et sous la réserve expresse que ce soit du lait de A et non d'un autre animal.

Comme la préparation d'anaphylaxie, au moins d'*anaphylaxie renforcée* (multiplication des injections préparatoires à quelques jours d'intervalle) ne diffère pas de la préparation suivie pour engendrer un sérum précipitant, on doit se demander si l'injection pratiquée pour déclencher la crise d'anaphylaxie ne provoque pas la formation d'un précipité dans le sang circulant, précipité dont les flocons viendraient obturer des capillaires et produire des troubles circulatoires provocateurs des accidents observés. En d'autres termes, *les accidents divers de la réaction d'anaphylaxie sont-ils la conséquence d'une précipitation intravasculaire* ? Les faits suivants apportent une réponse bien nette : les accidents anaphylactiques ne sont pas la conséquence d'une précipitation intravasculaire.

Les accidents anaphylactiques se produisent chez les animaux n'ayant reçu qu'une injection préparatoire, même peu abondante. Or, dans ces conditions, le sérum de l'animal préparé n'est pas précipitant pour la substance injectée (la propriété précipitante n'apparaît que si l'injection préparatoire est répétée).

L'injection intra-organique de gélatine ou de peptone ne détermine pas la production d'un sérum précipitant pour la gélatine ou pour la peptone. Et pourtant l'injection de gélatine dans les veines du lapin gélatino-anaphylactisé, ou de peptone dans les veines du lapin pepto-anaphylactisé provoque l'apparition d'accidents qui ne sont autres que les accidents de séro, d'ovo, de lacto-anaphylaxie.

Nous rappelions tout à l'heure que la réaction de précipitation est rigoureusement spécifique. Or la réaction d'anaphylaxie ne l'est pas. Où prendrait-on une précipitation dans un cas d'*hétéro-anaphylaxie* ? Et pourtant, nous l'avons dit, la réaction d'*hétéro-anaphylaxie* (ou anaphylaxie hétérologue) ne diffère ni qualitativement ni quantitativement de la réation d'*homo-anaphylaxie* (ou anaphylaxie homologue).

On pourrait d'ailleurs montrer que, dans maintes circonstances où expérimentalement on provoque la formation du précipité spécifique dans le sang circulant d'un lapin, aucun accident ne se produit, de ceux qu'on note dans la réaction d'anaphylaxie. N'insistons pas.

Nous nous bornerons à donner de très sommaires indications sur le mécanisme physiologique de la crise de protéo-anaphylaxie, parce qu'il ne convient pas ici de traiter à fond les questions qui relèvent de la physiologie pathologique.

Quelques auteurs ont décrété que les accidents de la crise d'anaphylaxie sont *neurotoxiques*, c'est-à-dire résultent d'une action exercée directement sur les centres nerveux par la substance toxique (la strychnine, les anesthésiques sont des poisons neurotoxiques), parce qu'on note de l'agitation et occasionnellement de la stupeur. Cette opinion est radicalement fausse : on peut démontrer en effet (nous ne nous attarderons pas à développer la démonstration ici) que la dépression et que la polypnée ne sont pas conséquences d'une action exercée sur les centres nerveux vasculaire et respiratoire, mais bien d'une *action exercée à la périphérie*. Personne d'ailleurs ne prétendra que le retard de coagulation du sang, que les lésions locales soient phénomènes neurotoxiques.

Les divers éléments symptomatiques de la crise d'anaphylaxie, ou tout au moins les trois éléments fondamentaux que nous avons retenus, dépression, polypnée, diminution de la coagulabilité du sang, sont indépendants les uns des autres : quand on provoque par un moyen convenable quelconque la chute de pression, on ne constate pas toujours et nécessairement la polypnée et la diminution de la coagulabilité du sang ; quand on provoque par un moyen conve-

nable quelconque la diminution de la coagulabilité du sang, on ne constate pas toujours et nécessairement la dépression et la polypnée. Par contre, la chute de pression a pour conséquence la faiblesse générale de l'animal, son état demi-comateux, l'anurie ou l'oligurie. On peut, par conséquent, dans la crise d'anaphylaxie, distinguer des faits essentiels et des faits dérivés des premiers.

Nous admettrons, sans nous attarder ici à en faire la démonstration, que les faits de la crise d'anaphylaxie sont la conséquence d'une excitation produite par la substance toxique sur un élément anatomique rendu sensible à son action par la préparation d'anaphylaxie et nous vérifierons cette conception par les conséquences qui en dérivent.

Si la crise d'anaphylaxie provient d'une excitation, il sera possible de l'atténuer à volonté, en prenant telles dispositions qui diminueront l'efficacité de l'excitation. Or nous en pouvons imaginer plusieurs et notamment les suivantes.

Une excitation est d'autant plus vive et son effet d'autant plus grand qu'elle agit plus brusquement et modifie plus rapidement les conditions ambiantes. On peut donc espérer, si notre conception est juste, qu'il sera possible de diminuer les effets de l'injection déchaînante (ou provocatrice de crise d'anaphylaxie), en la faisant très lentement, afin que le changement qu'elle apporte à la composition des humeurs se fasse par degrés insensibles. En fait, l'expérience justifie cette prévision : la chute de pression est moins brusque, moins profonde et moins durable si, toutes autres conditions égales, on injecte 5 c.c. de sérum de cheval dans les veines du lapin séro-anaphylactisé en 5 min., que si on les injecte en 5 sec. — L'injection sous-cutanée de sérum de cheval chez le lapin séro-anaphylactisé ne produit que des accidents modérés (l'absorption se fait lentement), alors que l'injection intraveineuse produit des accidents graves. — Les injections fractionnées de sérum, espacées de quelques minutes, permettent d'introduire dans l'organisme des lapins séro-anaphylactisés, sans provoquer autre chose que des accidents légers, des quantités de sérum, qui, injectées en une seule fois, eussent conduit à des accidents remarquablement graves.

Ces quelques notions pourront sans doute recevoir des applications importantes en *sérothérapie humaine,* si les choses se passent chez l'homme comme chez le lapin, quand il faudra pratiquer une injection de sérum chez un sujet en ayant antérieurement subi une ou plusieurs : il conviendra de faire l'injection sous-cutanée et non pas intraveineuse, de fractionner le plus possible l'injection, etc.

Quand on injecte du sérum de cheval sous la peau du *chien,* du *rat,* du *cobaye,* du *pigeon,* etc., de semaine en

semaine, pendant 8, 12, 15 semaines et plus encore, on ne voit jamais se produire ni lésions cutanées, ni infiltrations séreuses ou purulentes, ni retard de résorption du sérum injecté, tous phénomènes qui nous ont si vivement frappés chez le lapin. N'y aurait-il donc pas de séro-anaphylaxie du chien, du rat, du cobaye, du pigeon, etc.? La séro-anaphylaxie ne serait-elle qu'une *curiosité intéressant la seule histoire biologique du lapin?*

On peut démontrer, chez le chien en particulier, que l'injection intraveineuse de sérum de cheval, pratiquée chez un animal préparé par une ou par plusieurs injections de sérum de cheval, provoque des accidents divers, que le sérum ne produit pas chez le chien neuf, et, en particulier, une chute de pression artérielle et une incoagulabilité du sang. Voici des faits.

Un chien a reçu 3 ou 4 fois de semaine en semaine 10 c.c. de sérum de cheval en injections sous-cutanées. Nous lui injectons dans une veine 5 à 10 c.c. du même sérum. De 30 sec. à 1 min. après l'injection, on note une agitation violente, puis des efforts de vomissement et des vomissements; des urines et des matières fécales sont rejetées. L'animal, tombé sur le sol, est là immobile, les yeux ouverts, la tête pendante, respirant largement; les réflexes ne sont pas abolis; l'animal réagit aux excitations cutanées. Cet état de dépression générale dure parfois plusieurs heures, parfois moins longtemps; quelquefois l'animal meurt rapidement après l'injection; le plus souvent il survit, et le lendemain il ne reste pas trace de la crise subie. Brusquerie du début, gravité des accidents, disparition généralement rapide de ces accidents et retour à la pleine santé en un temps très court, voilà pour justifier les expressions de choc anaphylactique et de crise d'anaphylaxie.

L'analyse physiologique permet de reconnaître une chute de la pression artérielle et l'incoagulabilité du sang.

En général, la chute de pression débute 20 à 30 sec. après l'injection; elle est assez brusque, car 1 min. suffit pour que le minimum soit atteint; elle est considérable, la pression passant de 120-150 mm. à 20-30 mm. Après s'être maintenue à ce minimum pendant 15, 30 min. ou même plus longtemps, la pression remonte lentement, mais sans arrêt, pour recouvrer, au bout de plusieurs heures, sa valeur primitive. L'anurie s'est manifestée et s'est maintenue tant que la pression a été inférieure à 40 mm.; quand la pression, revenant à la normale, a dépassé cette valeur, la sécrétion urinaire s'est rétablie

faible d'abord, puis de plus en plus abondante, à mesure que remontait la pression artérielle.

Le sang recueilli quelques instants après l'injection (1 min. p. ex.) ou plus tard (1/2 h. ou 1 h.) est non spontanément coagulable ; il a l'apparence et les caractères du sang de peptone non spontanément coagulable, et, comme ce dernier, il peut être amené à coaguler par dilution (2 à 3 vol. d'eau distillée), par addition de chlorure de calcium (1 à 2 pour 1000), ou par addition de thrombine.

Il y a donc chez le *chien,* comme chez le lapin, *une crise de séro-anaphylaxie* dont nous venons de tracer les grandes lignes. De même d'ailleurs qu'on n'avait pas observé de lésions locales au point d'injection, de même n'observe-t-on jamais de cachexie s'établissant quelques jours après la crise d'anaphylaxie et s'aggravant jusqu'à la mort.

L'état d'anaphylaxie est réalisé, chez le chien comme chez le lapin, par une seule injection de sérum de cheval. Il y a, chez les deux animaux, une période d'incubation de 8 jours approximativement. Comme chez le lapin, la réaction séro-anaphylactique chez le chien est faible, si l'essai est fait à un moment précoce (8 à 10 jours après l'injection préparatoire p. ex.) ; elle s'accentue les jours suivants, pour présenter un maximum 3 semaines environ après l'injection ; puis elle demeure constante pendant des mois, peut-être des années : on est donc autorisé à distinguer (après la phase d'incubation) une phase d'anaphylaxie croissante, puis une phase d'anaphylaxie constante, la première courte (2 semaines environ), la dernière très longue. Comme chez le lapin enfin, la répétition des injections préparatoires exagère l'état d'anaphylaxie, c'est-à-dire rend l'animal plus sensible à l'injection d'essai (nous noterons ci-dessous que cette proposition n'est vraie que si le nombre des injections, supposées faites de 7 jours en 7 jours, ne dépasse pas 4 ou 5).

N'identifions pourtant pas absolument la séro-anaphylaxie du lapin et celle du chien : il y a des dissemblances. Chez le lapin, on peut observer les lésions locales, et, par une injection intraveineuse, provoquer la cachexie séro-anaphylactique ; on n'observe ni lésions locales, ni cachexie chez le chien. Chez le lapin, on observe la polypnée ; elle manque totalement chez le chien. Chez le lapin, le sang coagule

tardivement, il est vrai ; mais il ne perd pas complètement sa coagulabilité, chez le chien, le sang est absolument incoagulable. Enfin le sérum du chien séro-anaphylactisé communique au chien neuf, auquel on l'injecte, une *séro-anaphylaxie passive*, de courte durée il est vrai, mais qui peut se manifester comme l'anaphylaxie active ; et cette transmission d'anaphylaxie se fait avec la plus grande netteté. Chez le lapin, on peut aussi obtenir une séro-anaphylaxie passive par injection de sérum de lapin séro-anaphylactisé, mais on n'y réussit qu'exceptionnellement, et l'anaphylaxie passive ainsi obtenue est toujours très légère.

Voilà beaucoup de bonnes raisons pour nous inviter à ne pas généraliser trop hâtivement en anaphylaxie et à ne pas conclure de ce qui se passe chez les animaux d'une espèce à ce qui devrait se passer chez les animaux d'une autre espèce.

Existe-t-il pour le chien comme pour le lapin, à côté de la séro-anaphylaxie des *protéo-anaphylaxies ?* On peut démontrer qu'il existe une ovo-anaphylaxie, dont l'histoire est calquée sur celle de la séro-anaphylaxie. Mais on n'a pas pu manifester de gélatino-anaphylaxie.

L'injection intraveineuse de blanc d'œuf au tiers (la dilution ayant pour objet de diminuer la viscosité du liquide) est absolument inoffensive chez le chien neuf. Chez le chien qui a d'abord subi une ou plusieurs injections sous-cutanées de la même liqueur, l'injection intraveineuse de blanc d'œuf au tiers détermine tous les accidents (ceux que révèle l'examen direct, et ceux que révèle l'analyse physiologique, chute de pression et incoagulabilité du sang) notés dans la crise de séro-anaphylaxie.

Une nouvelle différence s'affirme ici entre les anaphylaxies du lapin et du chien : *les protéo-anaphylaxies du lapin ne sont pas spécifiques ; les protéo-anaphylaxies du chien sont rigoureusement spécifiques.* Le chien séro-anaphylactisé en effet ne réagit pas à l'injection de blanc d'œuf ; le chien ovo-anaphylactisé ne réagit pas à l'injection de sérum. Répétons donc que l'anaphylaxie n'obéit pas aux mêmes lois chez toutes les espèces, et qu'*en anaphylaxie il faut toujours tenir compte de l'espèce* à laquelle appartient l'animal d'expérience.

Si on prépare un chien par injections sous-cutanées de gélatine en solution à 10 %, que l'injection soit unique ou qu'on la renouvelle plusieurs fois, jamais on ne détermine d'accidents mêmes minimes en injectant la même liqueur gélatinée dans les veines du chien préparé. Voilà encore une différence entre le lapin et le chien : il y a une gélatino-anaphylaxie du lapin, il n'y a pas de gélatino-anaphylaxie du chien.

Il y a par contre une *pepto-anaphylaxie du chien* et, sur laquelle il convient d'insister, en raison de l'importance théorique qu'elle présente.

Injectons sous la peaud'un chien de semaine en semaine, et à 4 ou 5 reprises, 10 c.c. de peptone à 10 °/₀ ; puis, comparativement, injectons dans les veines de deux chiens de même poids, l'un neuf, l'autre ainsi préparé, la même quantité de peptone, en la choisissant minime, 1 cgr. par kg. p. ex. Chez le chien neuf, la chute de pression est insignifiante (de 117 mm. à 106 p. ex.) et ne dure que quelques instants (moins de 2 min.) ; chez le chien préparé, la chute de pression est considérable (de 130 mm. à 25 p. ex.) et plus durable (1/4 d'h. p. ex.). Le sang extrait de l'artère du premier, 20 min. après l'injection de peptone, coagule en 5 min. (donc sans retard) ; le sang extrait de l'artère du second dans les mêmes conditions est incoagulable.

En injectant chez des chiens neufs des quantités diverses de peptone et notant les accidents provoqués, on reconnaît que les accidents produits par l'injection de 1 cgr. de peptone par kg., chez le chien préparé, ont la même intensité que ceux qui sont produits chez le chien neuf par l'injection de 5 cgr. de peptone par kg.

Il y a donc pepto-anaphylaxie du chien. Or la peptone injectée dans les veines du chien neuf à dose convenable (1 cgr. par kg. ou plus) provoque des accidents, comme les congestines provoquent des accidents chez le chien neuf. La *pepto-anaphylaxie du chien* est donc une *anaphylaxie type congestine*, caractérisée par l'exagération de la toxicité d'une substance pour l'animal préparé. Les symptômes de la réaction de pepto-anaphylaxie du chien ne diffèrent d'ailleurs pas notablement des symptômes de la réaction de séro ou d'ovo-anaphylaxie du chien. *Il n'y a donc pas de raison de séparer les deux anaphylaxies, l'anaphylaxie type congestine et la séro-anaphylaxie.*

Ainsi se trouve justifié le rapprochement qui a été fait dès l'origine entre l'anaphylaxie pour les congestines et la séro-anaphylaxie, et la dénomination commune d'anaphylaxie qu'on leur a appliquée.

La peptone, toxique pour le chien neuf, n'est pas toxique pour le lapin neuf. Le chien préparé par injections de peptone présente une anaphylaxie type congestine (renforcement de toxicité). Le lapin pré-

paré par injections de peptone présente une anaphylaxie type séro-anaphylaxie (apparition de toxicité). Serait-il raisonnable d'imaginer que les deux anaphylaxies ne sont pas une seule et même chose, quand une même substance injectée, dans les mêmes conditions, chez deux animaux produit soit l'une de ces anaphylaxies, soit l'autre, suivant l'espèce de l'animal ?

Dans la réaction de pepto-anaphylaxie du chien, les accidents observés sont les mêmes que dans les réactions de séro ou d'ovo-anaphylaxie. Mais ils sont les mêmes aussi que ceux qu'on observe dans l'intoxication du chien neuf par une dose suffisante de peptone : état semi-comateux, chute considérable de la pression artérielle, incoagulabilité du sang, etc. Ce sont aussi les mêmes accidents qu'on observe dans les intoxications par sérums ou par protéines toxiques ; comme d'ailleurs les accidents de la réaction générale d'anaphylaxie du lapin ne diffèrent pas des accidents que provoque chez lui l'injection de sérums et de protéines toxiques.

D'innombrables travaux ont été publiés sur la *séro-anaphylaxie du cobaye,* malheureusement dirions-nous volontiers, parce que le cobaye se comporte en anaphylaxie d'une manière très particulière, ce qui, à notre avis, le rend fort impropre à servir utilement à faire progresser nos connaissances. Toutefois, il importe de connaître (justement à cause de la multiplicité des recherches) les résultats principaux.

Si on injecte du sérum de cheval sous la peau, ou dans le péritoine (5 c.c. p. ex.), ou sous la dure-mère crânienne (1/4 c.c p. ex.), chez le cobaye, on ne produit pas d'accidents. Si on fait la même injection chez un cobaye ayant reçu sous la peau ou dans le péritoine (au moins 10 à 12 jours auparavant) une première injection inoffensive de sérum de cheval, des accidents éclatent. Presque aussitôt après l'injection, l'animal présente des signes d'inquiétude et de souffrance ; la respiration devient accélérée, puis dyspnéique ; le cœur faiblit, etc. : 1/2 h. à 1 h. après l'injection, 25 °/₀ des cobayes ainsi traités sont morts ; les autres se rétablissent (injection seconde pratiquée sous la peau, ou mieux dans le péritoine). Si l'injection seconde est faite à la dose de 1/4 c.c., ou même à plus faible dose sous la dure-mère crânienne, on note, 1 à 2 min. après l'injection, les mêmes acci-

dents, mais la mort est ici la terminaison à peu près certaine de la crise ; les cobayes qui survivent sont extrêmement rares.

La séro-anaphylaxie du cobaye peut être engendrée par l'injection de doses extrêmement minimes de sérum de cheval (et jusqu'à 0,000001 c.c.) ; la voie d'injection est indifférente (sous-cutanée, intraveineuse, intramusculaire, sous-dure-mérienne, intrapéritonéale), pourvu qu'elle soit parentérale. La période d'incubation n'est pas inférieure à 10 jours. L'état d'anaphylaxie persiste sans atténuation pendant très longtemps (au moins 2 ans). La séro-anaphylaxie du cobaye est spécifique, l'animal ne réagit qu'à l'inoculation du sérum de cheval ayant servi à la préparation ; de même le cobaye préparé par injection de blanc d'œuf de poule, et par là ovo-anaphylactisé, ne réagit qu'à l'injection de blanc d'œuf de poule : l'injection de sérum de cheval, pratiquée chez le cobaye ovo-anaphylactisé, n'engendre aucun accident. On peut créer très facilement une séro-anaphylaxie passive chez le cobaye, en lui injectant du sérum de cobaye activement anaphylactisé ; cette anaphylaxie passive s'atténue rapidement et disparaît en 3 semaines environ ; elle n'est pas réalisée aussitôt après l'injection du sérum de cobaye, mais seulement 24 h. plus tard (la séro-anaphylaxie passive du chien existe aussitôt après l'injection du sérum de chien préparé).

A coup sûr, le fait le plus remarquable de l'histoire de la séro-anaphylaxie du cobaye, c'est l'*instabilité de cette séro-anaphylaxie*. Chez le chien et le lapin, l'état d'anaphylaxie est remarquablement stable, quels que soient les faits intercurrents ; il en est autrement chez le cobaye.

Supposons que, chez un cobaye anaphylactisé par une injection intrapéritonéale ou sous-cutanée de sérum cheval, on injecte (après le 10e jour) du sérum de cheval dans le péritoine, une crise éclate, qui peut être non mortelle : on constate que le cobaye survivant a perdu, au moins pour un temps fort long (plusieurs mois), sa sensibilité au sérum de cheval : il a été *désanaphylactisé* disent les uns, *anti-anaphylactisé* disent les autres.

Supposons que, chez un cobaye ayant reçu l'injection préparatoire de sérum de cheval, on injecte pendant la période d'incubation (avant le 10e jour) du sérum de cheval dans le péritoine, on constate que cette injection, qui n'a pas provoqué de crise, n'en a pas moins désanaphylactisé ou anti-anaphylactisé le cobaye, car, si on renouvelle cette injection de sérum après le 10e jour, elle est encore inoffensive.

Supposons que, chez un cobaye séro-anaphylactisé, on injecte dans le péritoine ou sous la dure-mère crânienne du sérum de cheval dilué de 3 vol. d'eau distillée et chauffé à 100° (en raison de la dilution, il n'y a pas coagulation), il ne se produit pas d'accidents, et le cobaye est désanaphylactisé.

Enfin supposons que chez un cobaye séro-anaphylactisé, on réalise l'anesthésie par l'éther, et qu'on injecte du sérum de cheval sous la dure-mère ou dans le péritoine, durant l'anesthésie, à une dose pour laquelle la mort se produit surement chez le cobaye anaphylactisé non anesthésié ; on ne constate aucun accident et le cobaye est désanaphylactisé.

Rien de semblable ne s'observe chez le chien et chez le lapin ; en particulier, aucune des interventions qui viennent d'être indiquées ne les désanaphylactise. La *désanaphylaxie* ou l'*anti-anaphylaxie* sont des particularités de l'histoire de l'anaphylaxie du cobaye. En anaphylaxie, répétons-le, il faut se garder de généraliser des résultats qui n'ont été obtenus que chez des animaux d'une seule espèce. En particulier, on ne saurait approuver ceux qui ont proposé d'appliquer à l'homme sans plus ample informé, les procédés de désanaphylaxie du cobaye, pour éviter la production d'accidents anaphylactiques dans le cas d'injections répétées de sérum de cheval.

Dans les cas divers où a été notée la désanaphylaxie du cobaye, mieux eût valu parler d'anaphylaxie masquée. Si, en effet, on injecte à un cobaye neuf le sérum d'un cobaye désanaphylactisé par un procédé quelconque, on engendre l'anaphylaxie, comme si on avait injecté le sérum d'un cobaye anaphylactisé.

Dans la réaction générale d'anaphylaxie, les accidents engendrés sont ceux qu'on note dans les intoxications protéiques chez le chien et le lapin. On est donc amené à se demander s'il ne serait pas possible d'observer une *anaphylaxie pour toutes les intoxications protéiques*. Or les envenimations comportent toutes au moins un élément protéotoxique : *y a-t-il donc une anaphylaxie venimeuse* ? Les expériences suivantes répondent affirmativement.

Chez le lapin, l'injection intraveineuse de 2 mgr. de venin de cobra détermine une chute modérée de la pression artérielle (10 mm. p. ex.) et une faible accélération respiratoire (le rythme passe de 50 à 60 p. ex.). Préparons un lapin par 3 ou 4 injections sous-cutanées, espacées de 7 jours, de venin de cobra à dose non mortelle (1/4 mgr. p. ex.), puis injectons dans ses veines 2 mgr. de venin de cobra : la chute de pression est plus grande (25 mm. p. ex.) et l'accélération respiratoire est augmentée (le rythme passe de 50 à 90 p. ex.). Il y a donc exagération des phénomènes protéotoxiques de l'intoxication cobraïque.

La réaction d'anaphylaxie n'étant pas spécifique chez le lapin, on

peut prévoir que le lapin séro-anaphylactisé présentera une sensibilité exagérée à l'action protéotoxique du venin de cobra et qu'inversement le lapin cobra-anaphylactisé sera sensible à l'action toxique du sérum de cheval, se comportant vis-à-vis de ce sérum comme le lapin séro-anaphylactisé. L'expérience vérifie pleinement ces prévisions.

Notons en passant que le lapin cobra-anaphylactisé, ou séro-anaphylactisé ne manifeste une sensibilité exagérée que pour l'action protéotoxique du venin de cobra et non pour l'entière action toxique de ce venin : l'action curarisante du venin, en effet, n'est pas exaltée par la préparation. Ceci dit en passant ; nous y reviendrons ci-dessous pour en tirer d'importantes conclusions.

Des faits équivalents s'observent quand on substitue au venin de cobra du venin de serpents appartenant à des espèces ou à des genres voisins (Najas, Bungares, etc.). Partout et toujours, nous reconnaissons l'anaphylaxie venimeuse, anaphylaxie du type congestine, puisque le venin, protéotoxique pour le lapin neuf, est plus puissamment protéotoxique pour le lapin préparé.

On démontrerait de même qu'il y a une anaphylaxie par et pour le venin de daboïa : ce venin est protéotoxique, et, même à très faible dose provoque une chute très brusque et importante de la pression artérielle. Cette chute est exagérée en grandeur et en durée, si l'injection du venin est faite à la même dose minime chez un lapin daboïa-anaphylactisé ou cobra-anaphylactisé ou séro-anaphylactisé, et non plus chez un lapin neuf.

Il est ainsi facile de manifester une anaphylaxie venimeuse par la constatation de l'exagération des accidents protéotoxiques et notamment de la chute de pression provoqués par l'injection d'un venin dans les veines d'un lapin préparé. On peut la manifester encore par un certain nombre de réactions, parmi lesquelles nous ne retiendrons que les suivantes relatives aux accidents locaux et à la cachexie anaphylactique, équivalentes aux faits notés en séro-anaphylaxie.

Des lapins ont reçu en injections sous-cutanées, de 4 jours en 4 jours, chaque fois 1/4 mgr. de venin de cobra (en solution 1/8000). A la suite des 3 premières injections, la résorption s'est faite assez rapidement et complètement (tout au plus note-t-on une faible infiltration œdémateuse, qui ne persiste pas 48 h. après l'injection). Mais, à la suite de la 4e, de la 5e, de la 6e injection, sont apparus des accidents locaux très graves, infiltrations caséeuses, abcès, gan-

grènes, etc., présentant les plus frappantes analogies macroscopiques avec les lésions locales de séro-anaphylaxie.

Les lésions locales de séro-anaphylaxie s'observent chez le lapin, mais ni chez le chien, ni chez le cobaye, même quand les injections préparatoires sont nombreuses (20 injections faites à 7 jours d'intervalle, p. ex.). Il en est autrement si l'on fait chez le chien une série d'injections de venin de cobra en solution à 1/1000 p. ex. Les premières injections ne produisent pas de lésions locales; mais les injections tardives engendrent de vastes et profondes lésions gangréneuses, qui ressemblent à celles que présente le lapin anaphylactisé. C'est dire que la différence constaté entre le chien et le lapin (le chien ne présentant pas de lésions locales séro-anaphylactiques, le lapin en présentant de très graves) n'est pas absolue, et disparaît quand on expérimente avec un venin, au lieu d'expérimenter avec le sérum de cheval.

Les faits de cachexie anaphylactique ont été également reconnus en anaphylaxie venimeuse. Si on injecte sous la peau de lapins du venin de cobra, d'hamadryas, de daboïa, à dose non mortelle, et si on répète l'injection plusieurs fois à 4 ou 5 jours d'intervalle, un moment arrive (après la 5e injection généralement pour les deux premiers venins; après la 4e déjà pour le dernier), où l'animal maigrit et se cachectise (même si on ne répète pas les injections), pour mourir au bout de 8 à 12 jours (venins de cobra et d'hamadryas), ou au bout de 5 à 6 jours (venin de daboïa). La cachexie d'anaphylaxie venimeuse présente les caractères généraux de la cachexie séro-anaphylactique et notamment l'anémie et la leucocytémie de celle-ci; mais elle évolue plus rapidement (la mort par cachexie séro-anaphylactique tarde généralement de 4 à 6 semaines); et, d'autre part, elle se développe même si toutes les injections ont été faites sous la peau (la cachexie séro-anaphylactique n'apparaît que rarement à la suite d'injections sous-cutanées de sérum de cheval : en général il faut que l'ultime injection tout au moins ait été faite dans les veines.)

Il serait fort important de rechercher s'il existe une *anaphylaxie pour les toxines microbiennes*, comme il en existe pour les venins et pour les protéines en général. Nous n'avons pas présentement de documents suffisants pour affirmer qu'une telle anaphylaxie existe; il convient donc de réserver la conclusion.

Notons pourtant un fait qui plaide en faveur d'une anaphylaxie par et pour les toxines microbiennes : quand on pratique chez les animaux une série d'injections de toxines

microbiennes, pour créer chez eux l'immunité, on détermine souvent une cachexie qui interrompt la préparation, au moins quand la toxine injectée n'a été modifiée ni par la chaleur ni par les agents chimiques. On peut au moins se demander si cette cachexie n'est pas le témoin d'une anaphylaxie engendrée par les injections répétées de toxines. Mais il serait certes imprudent d'affirmer d'emblée que cette anaphylaxie est une anaphylaxie par et pour la toxine proprement dite, car elle pourrait aussi bien être une anaphylaxie par et pour les protéines contenues, avec la toxine, dans la liqueur microbienne filtrée. La question de l'anaphylaxie par et pour les toxines microbiennes demeure posée.

Pour engendrer l'immunité antitoxique, nous avons injecté la toxine, à dose non mortelle, sous la peau des animaux que nous préparions ; nous pouvions l'injecter sans la modifier, mais de préférence, nous lui faisions subir quelque changement sous l'influence de la chaleur ou d'agents chimiques, pour éviter que quelque complication de cachexie plus ou moins rapidement mortelle ne mette fin prématurément à la préparation ; nous renouvelions à plusieurs reprises l'injection préparatoire, d'abord à la même dose et dans les mêmes conditions, puis en augmentant la dose, et plus tard en renonçant à modifier la toxine (si nous l'avions modifiée au début) : l'immunité s'établissait ainsi, difficile à reconnaître après les toutes premières injections, mais s'affirmant et se développant ensuite progressivement jusqu'à atteindre un très haut degré ; nous pouvions alors transmettre cette immunité à un animal neuf, en lui injectant du sérum de l'animal préparé, et, pour aider au langage, nous imaginions que ce sérum renfermait une antitoxine, apte à neutraliser la toxine avec laquelle elle entrerait quelque part en conflit.

Pour engendrer l'anaphylaxie, nous avons injecté la protéine inoffensive ou toxique, ou le venin sous la peau des animaux à préparer ; nous les avons toujours injectés

sans modification préalable ; et nous produisions ainsi l'anaphylaxie après une période de 8 jours, ou à peu près ; souvent, sinon toujours, nous renouvelions l'injection plusieurs fois à quelques jours d'intervalle pour renforcer l'anaphylaxie. Il était en général possible de transmettre, plus ou moins nettement d'ailleurs, l'anaphylaxie aux animaux neufs, en leur injectant du sérum d'anaphylactisé, ce qui nous conduisait à imaginer une substance anaphylactisante, apte à sensibiliser l'animal à l'action toxique de la protéine utilisée dans la préparation d'anaphylaxie.

Sans doute, il n'y a pas identité entre les deux préparations d'immunité et d'anaphylaxie, et des différences doivent être relevées entre elles, ou tout au moins des nuances, dont les suivantes sont les principales. L'anaphylaxie apparaît de bonne heure ; la période d'incubation ne dépasse pas 8 jours, chez le lapin tout au moins et pour le sérum de cheval ; elle augmente rapidement d'intensité, sans qu'il soit besoin de renouveler l'injection, et peut se révéler aisément, même si la dose de la liqueur injectée est minime, par des manifestations intenses moins de 15 jours après la préparation. L'immunité antitoxique apparaît plus tardive ; la période d'incubation est plus ou moins longue selon les modalités de la préparation, mais toujours notablement plus longue que la période d'incubation anaphylactique ; elle ne se révèle pas après une seule injection ; il faut renouveler plusieurs fois, à quelques jours d'intervalle, l'injection préparatoire, en employant de préférence des doses voisines de la dose mortelle, pour engendrer une immunité manifestable par la résistance plus grande de l'animal à la toxine employée. Bref, l'*anaphylaxie,* d'une façon générale, est une *réaction précoce* de l'organisme aux injections de protéines inoffensives ou toxiques ; l'*immunité* est une *réaction assez lointaine* de l'organisme aux injections de toxines et de protéines toxiques ; l'*anaphylaxie* peut être une réponse de l'organisme à une *unique injection minimale* ; l'*immunité* est une réponse de l'organisme à une *série d'injections maximales ou juxta-maximales.*

Ce ne sont là, certes, que des approximations, qu'il ne

faut pas prendre pour affirmations trop catégoriques, mais qui orientent les recherches et suscitent des questions, celle-ci p. ex. *Quels sont les rapports de l'anaphylaxie et de l'immunité* ? Sont-elles *deux modifications organiques distinctes,* évoluant en toute indépendance, sans s'influencer l'une l'autre, pouvant se recouvrir et se masquer dans leurs manifestations, mais sans se supprimer en vérité et que nous reconnaîtrons toujours existant côte à côte en usant d'artifices judicieux ? Ou correspondent-elles simplement à *deux phases de l'évolution d'un même processus biologique,* se succédant l'une à l'autre, l'anaphylaxie précédant l'immunité, l'immunité suivant l'anaphylaxie, dont elle ne serait, pour ainsi dire, que la conséquence ou plus exactement l'épanouissement ; la variété et l'opposition des manifestations dissimulant à nos yeux l'identité d'états physiologiques imparfaitement éclairés ?

Avant d'aborder l'étude de ce problème d'importance capitale, il importe de présenter des faits remarquables, les premiers relatifs à l'existence d'un état mixte participant à l'anaphylaxie par certains caractères et par d'autres à l'immunité, et que nous appelons *état d'anaphylaxie-immunité* ; les seconds relatifs à la succession des deux états d'anaphylaxie et d'immunité sous l'influence d'une préparation prolongée, l'immunité se substituant progressivement à l'anaphylaxie.

L'anaphylaxie et l'immunité peuvent exister simultanément chez le même animal ; on peut les y révéler grâce à des artifices expérimentaux.

Voici un premier exemple d'*anaphylaxie-immunité,* au moins apparente.

Nous avons noté ci-dessus que si l'on injecte sous la peau du lapin du venin de cobra en solution étendue et à dose non mortelle (p. ex. 1/5 mgr. de venin par injection, en solution à 1 pour 10000), en renouvelant l'injection 6 à 8 fois à 4 ou 5 jours d'intervalle, on crée un état d'anaphylaxie, qui se manifeste par la production de lésions locales graves au niveau des dernières injections (les premières se résorbant sans laisser de trace), et par l'exagération des phénomènes protéotoxiques, succédant à l'injection de venin de cobra dans les veines du lapin préparé.

Mais alors qu'un lapin neuf, à la suite de l'injection intraveineuse

de 2 mgr. de venin de cobra, meurt en 20 à 22 min., victime de la curarisation cobraïque, le lapin préparé survit sans présenter ni parésie, ni dyspnée, manifestant par là une immunité contre le venin de cobra.

Nous constatons ainsi, chez un lapin préparé, un état d'anaphylaxie pour les accidents protéotoxiques, d'immunité pour les accidents curariques : c'est là une question de fait. Mais ces constatations nous autorisent-elles à imaginer un état d'*anaphylaxie-immunité* ? C'est-à-dire un état dans lequel l'animal est tout à la fois sensibilisé et insensibilisé à l'action toxique d'une même substance.

Assurément non, car l'étude méthodique du venin de cobra (que nous ne voulons pas faire ici) conduit à reconnaître dans ce venin deux agents toxiques distincts, l'un protéotoxique, l'autre curarisant. En vérité, en injectant au lapin le venin de cobra, nous avons mené de front deux préparations, l'une avec la substance protéotoxique et qui a conduit à l'anaphylaxie, l'autre avec la substance curarisante et qui a conduit à l'immunité. Tout au plus peut-on s'étonner que les deux préparations faites simultanément, et dans des conditions identiques, aient conduit à des résultats divergents. Mais il ne s'agit pas là à proprement parler d'anaphylaxie-immunité : en réalité, le lapin est anaphylactisé vis-à-vis d'une substance, et immunisé vis-à-vis d'une autre substance ; il y a chez lui *anaphylaxie et immunité*.

Voici un second groupe de faits fournissant un exemple d'*anaphylaxie-immunité réelle*.

Injecté dans les veines d'un lapin neuf, le venin de crotalus adamanteus détermine, à la dose de 2 mgr. des accidents protéotoxiques très nets, notamment une très forte chute de la pression artérielle et une légère accélération respiratoire.

Préparons des lapins par injections sous-cutanées répétées 6 à 8 fois à 5 ou 6 jours d'intervalle, à la dose de 1/5 mgr. Ces lapins sont anaphylactisés (il s'agit ici exclusivement de faits protéotoxiques), et l'on en peut fournir maintes preuves, parmi lesquelles nous retiendrons les deux suivantes : 1° si on injecte dans leurs veines du sérum de cheval, on provoque la chute de pression et l'accélération respiratoire caractéristiques de l'état d'anaphylaxie ; 2° si on injecte dans leurs veines 2 mgr. de venin de cobra on provoque des accidents protéotoxiques (notamment la chute de pression et l'accélération respiratoire) exagérés, comme il arrive chez l'animal anaphylactisé. Ces lapins sont en même temps immunisés (il s'agit encore ici des accidents protéotoxiques), et l'on en peut fournir au moins les deux preuves suivantes : 1° les accidents protéotoxiques (chute de pression et accélération respiratoire en particulier) provoqués chez eux par l'injection intraveineuse de venin de crotalus adam. sont moins

intenses et de moindre durée que les accidents correspondants, provoqués chez les lapins neufs par injection intraveineuse de la même dose du même venin ; 2° la dose mortelle de venin de crotalus adam., injecté par fractions successives de 1 mgr. de 10 min. en 10 min., est plus grande pour les lapins préparés que pour les lapins neufs.

Les lapins considérés sont donc à la fois immunisés et anaphylactisés pour les accidents protéotoxiques ; on est donc autorisé à parler, dans ce cas tout au moins, d'un *état d'anaphylaxie-immunité.*

Si nous nous étions bornés à faire les essais en injectant le seul venin de crotalus adam., nous eussions reconnu l'immunité, mais rien ne nous eût révélé l'anaphylaxie, et nous aurions sans doute admis que nos lapins étaient purement et simplement immunisés. Si nous nous étions bornés à faire les essais en injectant le seul sérum de cheval ou le seul venin de cobra, nous eussions reconnu l'anaphylaxie, mais rien ne nous eût révélé l'immunité, et nous aurions sans doute admis que nos lapins étaient purement et simplement anaphylactisés. Grâce à l'artifice qui consiste à faire un double essai chez le lapin (pour lequel l'immunité est spécifique, tandis que l'anaphylaxie ne l'est pas), et avec le venin ayant servi à la préparation, et avec un autre venin, ou avec du sérum de cheval, nous avons reconnu les deux états. Si nous n'avions utilisé pour l'essai que le venin de crotalus adam., l'*immunité eût masqué l'anaphylaxie* ; si nous n'avions utilisé pour l'essai que le venin de cobra ou le sérum de cheval, l'*anaphylaxie eût masqué l'immunité.* Mais *masquer n'est pas supprimer.*

Sous l'influence d'une longue série d'injections préparatoires de protéines ou de venins, *à l'anaphylaxie du début succède progressivement l'immunité,* au moins en apparence.

Voici un *premier ensemble de faits.*

Pratiquons, chez le chien, des injections sous-cutanées de venin de cobra à dose non mortelle, répétons-les à intervalle de quelques jours pendant 4 à 5 mois environ, puis, soit au milieu de la préparation (après 2 mois p. ex.), soit à la fin de cette préparation (après 5 mois p. ex.), pratiquons l'injection intraveineuse de venin de cobra, à dose non mortelle d'ailleurs, pour connaître les caractères et la grandeur de la réaction protéotoxique succédant à cette injection : le venin de croba injecté dans les veines du chien neuf produit une chute de pression plus ou moins considérable et plus ou moins durable, selon la dose injectée, et une diminution ou une suppression de la coagulabilité du sang, selon qu'on a injecté très peu ou un peu plus de venin.

Si on injecte dans les veines du chien neuf 1/3 mgr. de venin de cobra par kg., la chute de pression est modérée (la pression passe de 170 à 100 mm. p. ex.) et peu durable (déjà après 4 min., elle est à 130 mm. et recouvre sa primitive valeur à 8 ou 10 min.); le sang ne présente qu'un léger retard de coagulation (il coagule en 20 min. au lieu de 10 min.).

Si la même injection est faite chez le chien préparé deux mois après le début de la préparation, la chute de pression est plus considérable (la pression passe de 180 à 60 mm. p. ex.) et plus durable (10 min. après l'injection, elle n'est pas supérieure à 70 mm. et ne recouvre sa valeur primitive que plus d'une heure après l'injection); le sang est totalement incoagulable (on le trouve parfaitement liquide 24 h. après la prise). Ce sont là manifestations d'anaphylaxie.

Si on fait la même injection chez le chien préparé, cinq mois après début de la préparation, il ne se produit aucun accident, ni chute de le pression, ni diminution de la coagulabilité du sang. On peut même injecter chez l'animal ainsi préparé 1 mgr (et non plus 1/3 mgr.) de venin par kg. sans déterminer aucun accident, alors que cette dose tue le chien neuf en moins d'une heure. Ce sont là manifestations d'immunité.

On a conclu de ces faits que *l'anaphylaxie précède l'immunité,* cette dernière se substituant à la première durant que progresse la préparation. Mais cette conclusion, qui est la traduction des apparences, traduit-elle exactement les réalités? Expérimentons.

Supposons que nous disposions d'un chien soumis à une longue (5 mois p. ex.) préparation, faite à l'aide d'injections de venin de cobra; prélevons une certaine quantité de son sang, laissons-le coaguler, et recueillons le sérum exsudé du caillot. De ce sérum injectons à un chien neuf 10 c.c. par kig., puis injectons-lui 1 mgr. de venin de cobra par kg. dans les veines. Il ne se produit aucun accident, ni chute de pression, ni retard de coagulation du sang. L'injection du sérum de chien préparé dans les veines du chien neuf a donc réalisé pour celui-ci une immunité passive (nous avons en effet noté ci-dessus qu'une telle injection produit des accidents, et tue en moins d'une heure le chien neuf). Ce résultat n'est pas pour nous surprendre; il prouve que le sérum du chien activement immunisé par une longue préparation renferme une antitoxine, qui confère au chien neuf une immunité passive pour le venin de cobra. — Du même sérum de chien activement immunisé injectons seulement 4 à 5 c.c. par kg. à un chien neuf, puis injectons à ce dernier 1/3 mgr.

de venin de cobra dans les veines ; nous constatons que la chute de pression, que provoque cette dernière injection, est plus profonde et plus durable qu'elle ne l'est chez le chien neuf (ne recevant aucune injection préalable de sérum) traité de semblable facon. Le chien traité par le sérum a donc été anaphylactisé.

Donc le *sérum d'un chien activement immunisé* contre le venin de cobra par une longue préparation peut, selon la dose, *immuniser ou anaphylactiser* le chien neuf auquel on l'injecte : à faible dose, ce sérum est *anaphylaticsant* ; à forte dose, il est *immunisant*. N'est-il pas légitime de conclure que le chien longuement préparé par injections de venin de cobra est tout à la fois immunisé et anaphylactisé pour ce venin, et que son sang renferme, tout à la fois, une antitoxine et une substance anaphylactisante, capables d'immuniser passivement ou d'anaphylactiser passivement le chien neuf.

Si la quantité du sérum injecté est grande, la quantité d'antitoxine introduite dans l'organisme du chien neuf pourra suffire à neutraliser la totalité du venin qu'on y injecte ensuite, et comme la neutralisation d'un venin par l'antivenin correspondant est instantanée (p. 182), aucun fait d'anaphylaxie ne pourra se produire, tout le venin ayant disparu aussitôt qu'introduit. Si, par contre, la quantité du sérum injecté est petite, la quantité d'antitoxine introduite dans l'organisme du chien neuf pourra ne pas suffire à neutraliser la totalité du venin qu'on y injecte ensuite ; une petite quantité de ce venin pourra demeurer libre, et sera en mesure de produire, si l'animal est anaphylactisé, des accidents d'une extrême gravité.

Il n'est pas exact de dire ici que l'anaphylaxie a disparu devant l'immunité du fait d'une préparation prolongée par injections répétées de venin de cobra. Il faut modifier la formule et s'exprimer comme suit, Sous l'influence d'une préparation prolongée, l'animal présente un *état d'anaphylaxie-immunité,* dans lequel l'immunité masque l'anaphylaxie, au moins si on s'applique à reconnaître cette anaphylaxie en injectant dans les veines de petites doses de venin ; — mais dans lequel, tout au contraire, l'anaphylaxie masquerait l'immunité, si on pratiquait l'injection du venin à faible dose et en solution étendue sous la peau

(dans ces conditions, en effet, se produisent chez l'animal préparé des lésions locales très graves, qu'on n'observerait pas chez l'animal neuf dans les mêmes conditions d'injection). En usant de l'artifice qui consiste à pratiquer chez des animaux neufs l'inoculation du sérum des chiens activement immunisés et activement anaphylactisés, à dose petite ou grande, on est parvenu à démontrer l'existence simultanée des deux états biologiques chez le même animal pour le même agent protéotoxique.

Voici un *second groupe de faits.*

Injectons, chez le chien, du sérum de cheval sous la peau ; un état d'anaphylaxie d'intensité variable est créé, dont on peut fixer la grandeur en déterminant la grandeur et la durée de la chute de pression artérielle, qui suit, chez le chien préparé, l'injection intraveineuse de sérum de cheval. Or, si on répète de semaine en semaine l'injection sous-cutanée de sérum de cheval, on constate que l'intensité de la réaction d'anaphylaxie croît avec le nombre des injections, pour atteindre une valeur maxima après 4 ou 5 injections, puis décroît progressivement, si bien qu'après un grand nombre d'injections (20 p. ex.), la réaction d'anaphylaxie ne se produit plus, au moins pour des doses qui suffisaient très nettement à la produire auparavant : à l'anaphylaxie, pourrait-on répéter, a succédé l'immunité. En vérité, il faudrait, ici encore, modifier cette formule et admettre que, dans cette préparation par le sérum de cheval, comme dans la préparation par le venin de cobra, on a créé un état d'*anaphylaxie-immunité,* dans lequel, au début, l'anaphylaxie masque l'immunité, dans lequel, tardivement, l'immunité masque l'anaphylaxie, mais dans lequel on pourrait par des artifices judicieusement choisis manifester et l'anaphylaxie et l'immunité.

Le sérum de cheval, inoffensif, même à dose considérable, pour le chien neuf, devient toxique pour le chien préparé par une ou mieux par quelques injections sous-cutanées du même sérum, puis il devient peu toxique et enfin tout à fait inoffensif pour le chien longuement préparé. Il ne faudrait pourtant pas supposer que la seconde immunité est semblable à la première ; en vérité, elles sont dissemblables, la première est en effet immunité pure, la seconde est anaphylaxie-immunité. *Le mot immunité est insuffisant* : la première immunité antisérique serait avantageusement appelée *immunité naturelle,* la seconde pour-

rait être désignée sous le nom d'*immunité acquise*. N'a-t-on pas coutume d'employer ces expressions pour désigner, par la première, l'état d'un animal neuf réfractaire à une intoxication ou à une infection, et par la seconde, l'état d'un animal qui est devenu réfractaire à une intoxication ou à une infection à la suite d'un traitement convenablement institué.

Voici enfin un *troisième groupe d'expériences*, faites sur le lapin.

Injectons de 5 en 5 jours sous la peau de lapins 1/4 mgr. de venin de crotalus adam. et répétons les injections un nombre de fois plus ou moins grand, de façon que les lapins en aient reçu soit 1, soit 2, ... soit 10. Injectons alors, comparativement dans les veines de ces lapins et dans les veines de lapins neufs, 1/4 mgr. de venin de crotalus adam. Nous constatons que l'intensité de la réaction protéotoxique ainsi provoquée (on juge de cette intensité par la grandeur et la durée de la dépression artérielle et de l'accélération respiratoire, par l'émission de bols fécaux plus ou moins abondants) croît d'abord avec le nombre des injections préparatoires, jusqu'à atteindre un maximum (après 3 à 5 injections), puis décroît ensuite progressivement jusqu'à disparaître presque totalement chez l'animal ayant reçu 8 à 10 injections préparatoires. *A l'anaphylaxie du début succède ici encore l'immunité tardive.*

Cette immunité tardive n'est d'ailleurs, à vrai dire, qu'une *anaphylaxie-immunité*, dans laquelle l'immunité masque l'anaphylaxie ; car il est possible de démontrer très clairement ici [sans avoir besoin de recourir à l'artifice de l'immunité passive et de l'anaphylayie passive comme dans notre premier ensemble de faits (p. 229)] la coexistence des deux états : c'est justement à de telles expériences que nous reportions ci-dessus (p. 228) dans notre exemple d'anaphylaxie-immunité réelle.

Ces expériences suffisent pour montrer comment — au moins dans le cas des venins et du sérum de cheval — l'anaphylaxie est suivie et remplacée par l'immunité en apparence, et comment, en réalité, s'établit un *état d'anaphylaxie-immunité, dans les premières phases duquel prédomine l'anaphylaxie, dans les dernières phases duquel prédomine l'immunité.*

Cette coexistence des deux états d'anaphylaxie et d'immunité, leur intrication, la possibilité de manifester soit l'un, soit l'autre, selon les conditions dans lesquelles on

pose la question pour la résoudre expérimentalement, ont conduit certains auteurs à cette conclusion que, sous l'influence des injections multiples de protéines toxiques ou de venins, est engendrée une *modification organique essentiellement unique,* mais qui peut se révéler à nous par des réactions dissemblables, voire opposées, les unes représentant ce que nous appelons la réaction d'anaphylaxie, les autres représentant ce que nous appelons la réaction d'immunité.

On peut juger expérimentalement cette conception, suivant laquelle *anaphylaxie et immunité* ne sont que *deux manifestations distinctes d'un même état organique,* l'anaphylaxie précédant l'immunité, et celle-ci suivant celle-là.

Si cette conception est exacte toute immunité acquise doit être précédée d'une phase d'anaphylaxie. Si cette conception est exacte l'immunité, chez le lapin, ne doit pas être spécifique puisque l'anaphylaxie ne l'est pas. Or les expériences suivantes démontrent que l'immunité anticobraïque, antihamadryasique etc. s'installe sans être précédée d'une anaphylaxie correspondante ; et, d'autre part, l'immunité chez le lapin est spécifique, comme elle est spécifique chez les autres animaux, alors que l'anaphylaxie n'est pas spécifique, au moins chez le lapin. Voici les faits.

Injectons sous la peau de lapins du venin de cobra à la dose de 1/5 mgr. et répétons l'injection de 5 en 5 jours, de façon que les lapins aient reçu soit 1, soit 2... soit 6 injections préparatoires. Puis, 15 jours p. ex. après la fin de la préparation, injectons dans les veines de ces lapins 2 mgr. de venin de cobra et notons le moment où apparaissent les premiers troubles respiratoires, ou les premiers troubles cardiaques, ou l'arrêt de la respiration, ou la mort, qui se produisent après cette injection. Tous les lapins qui ont reçu 1 ou 2 injections préparatoires ne diffèrent pas — au point de vue curarisation — des lapins neufs recevant la même injection intraveineuse de 2 mgr. de venin ; partout les divers accidents et la mort se produisent exactement au même moment ; les animaux préparés ne sont pas plus sensibles à l'action curarisante du venin que les animaux neufs. Chez tous les lapins qui ont reçu au moins 3 injections préparatoires, les accidents et la mort sont plus tardifs qu'ils ne sont chez les lapins

neufs, et d'autant plus tardifs que la préparation a été poussé plus loin : l'immunité est ainsi manifestable chez les lapins ayant reçu au moins 3 injections préparatoires ; jamais on n'a pu manifester d'anaphylaxie curarique chez les lapins ayant reçu 1 ou 2 injections préparatoires.

Les résultats sont les mêmes quand on modifie les conditions d'expérience (variation des doses injectées lors de la préparation, variation des intervalles séparant deux injections préparatoires successives, variation des doses de venin employées lors de l'essai). Ils sont les mêmes quand on prépare les lapins à l'aide de venin d'hamadryas et quand on fait les essais avec ce dernier venin.

On arrive à des résultats équivalents en injectant sous la peau de lapins de 5 en 5 jours une dose de venin de cobra non mortelle, mais juxta-mortelle, toujours rigoureusement la même, p. ex. 1/4 mgr. S'il y avait anaphylaxie en cours de préparation, le lapin succomberait nécessairement, car anaphylaxie veut dire sensibilité exagérée : or jamais on ne provoque la mort de lapins qui ont supporté une première et une seconde fois l'injection de 1/4 mgr. de venin de cobra, en renouvelant la même injection à intervalles de 5 jours.

Voilà donc un exemple typique dans lequel *l'immunité s'établit sans être précédée d'anaphylaxie.*

Voici maintenant des faits qui mettent en évidence *la spécificité de l'immunité du lapin et la non-spécificité de son anaphylaxie.*

Voici deux venins curarisants, le venin de cobra et le venin de serpent noir d'Australie. Préparons des lapins en injectant à plusieurs reprises à quelques jours d'intervalle, sous leur peau, des doses juxta-mortelles de l'un ou de l'autre de ces venins. Nous constatons, pourvu que le nombre des injections préparatoires soit suffisant, que les lapins sont partiellement immunisés contre le venin ayant servi à leur préparation, mais ne le sont nullement contre l'autre venin.

Voici encore deux venins curarisants, le venin d'hamadryas et le venin de cobra, provenant de serpents appartenant à un même genre zoologique. Préparons des lapins par 5 ou 6 injections sous-cutanées, juxta-mortelles de venin d'hamadryas : en injectant dans les veines de ces lapins soit du venin d'hamadryas, soit du venin de cobra, nous constatons que les lapins sont immunisés contre le premier, mais ne le sont nullement contre le sesond.

Voici enfin deux venins protéotoxiques, le venin de crotalus adam. et le venin de cobra (faisons abstraction de l'action curarisante de ce

dernier). Préparons des lapins par 6 à 8 injections sous-cutanées de 1/5 mgr. de crotalus adam. pratiquées de 5 en 5 jours. Puis injectons dans les veines de ces lapins ainsi préparés et comparativement dans les veines de lapins neufs la même quantité, soit de venin de crotalus adam., soit de venin de cobra. Dans le premier cas (injection de venin crotalus adam.), la réaction protéotoxique est plus grande chez le lapin neuf que chez le lapin préparé (par ce même venin); dans le second cas (injection de venin de cobra), la réaction protéotoxique est plus faible chez le lapin neuf que chez le lapin préparé (par l'autre venin). Et cette expérience démontre de la façon la plus catégorique que l'*immunité du lapin est spécifique* (puisqu'elle ne se manifeste que pour le venin ayant servi à la préparation), mais que *son anaphylaxie ne l'est pas* (puisqu'elle s'affirme pour le venin de cobra, qui n'a pas servi à la préparation).

Tous ces faits conduisent à cette conclusion que *l'anaphylaxie et l'immunité sont deux états biologiques distincts*, engendrés l'un et l'autre par des injections de protéines ou de venins, *pouvant coexister chez un même animal* et se révéler à l'observateur dans des essais judicieusement conduits, mais *pouvant se masquer l'un l'autre*, et par là échapper à l'observateur superficiel, *deux états distincts s'établissant et évoluant indépendamment l'un de l'autre.*

Les expérimentateurs qui ont pratiqué soit dans des recherches scientifiques, soit dans la préparation des sérums antitoxiques, des immunisations d'animaux, de chevaux en particulier, ont signalé des faits, qui peuvent être interprétés, semble-t-il, comme traduisant le double état d'anaphylaxie-immunité. Parfois des animaux fournisseurs de sérum antidiphtérique ou antitétanique extrêmement puissant, ont présenté à la suite de l'injection d'une quantité de toxine insuffisante pour saturer la totalité de l'antitoxine présente dans les humeurs de l'animal des accidents graves, voire mortels.

Nous signalons ces derniers faits sans y insister, parce qu'ils ne présentent pas actuellement le caractère rigoureusement systématique des faits expérimentaux ci-dessus notés. Ils sont des curiosités se présentant au hasard, des accidents fortuits et en quelque mesure déconcertants; tandis que les faits qui ont été résumés ci-dessus présentent ce caractère de précision qu'on est en droit d'exiger des études scientifiques.

CHAPITRE XI

LES SÉRUMS PRÉCIPITANTS ET LES SÉRUMS AGGLUTINANTS

SOMMAIRE. — Les sérums d'animaux immunisés contre les liquides de culture microbienne filtrée précipitent ces liquides in vitro. — Précipitines microbiennes. — Spécificité de la précipitation et applications. — Précipitines chimiques. — Sérums précipitant le sérum d'anguille, le sérum de cheval, le lait, etc. — Conditions de la production des précipitines. — Sensibilité de la réaction de précipitation et titre précipitant d'un sérum. — Nature du précipité. — Spécificité zoologique et chimique des précipitines. — Applications des précipitations spécifiques.

Les sérums agglutinants. — Agglutination du bacille typhique et du vibrion cholérique par l'immunsérum correspondant. — Examen microscopique de l'agglutination : immobilisation et réunion en amas des bactéries. — Agglutination des hématies. — Les agglutinines et quelques-unes de leurs propriétés. — L'agglutination ne tue pas les microbes : cultures de microbes sur sérums agglutinants. — Titre agglutinant d'un sérum. — Production d'agglutinines, animaux de choix. — Spécificité de l'agglutination et ses limites ; nécessité de déterminer le titre agglutinatif. — Applications à la caractérisation des microbes. — Séro-diagnostic de la fièvre typhoïde, principe de la méthode. — L'agglutinine se fixe sur l'élément agglutinable sans le détruire. — Les deux phases de l'agglutination. — Union de l'agglutinine et de l'élément agglutinable. — Comparaisons : floculation de l'argile, caséification du lait. — Deux remarques pour finir : agglutination et précipitation ; agglutination des sérums normaux.

Nous avons injecté à plusieurs reprises des liqueurs filtrées de cultures microbiennes sous la peau d'animaux pour les immuniser contre les toxines contenues dans ces liqueurs. Si on recueille le sérum des animaux ainsi préparés et si on le mélange, en proportions convenables, avec le liquide filtré, supposé absolument limpide, dont on s'est

servi pour leur préparation, on constate qu'il apparaît dans un tel mélange, lentement et progressivement, une *opalescence* tout d'abord, une *précipitation* fine et légère ensuite, dont les particules finissent par se déposer au fond du liquide, sans s'y tasser du reste, en général.

De tels faits s'observent pour de très nombreux *liquides de cultures* (cholériques, typhiques, pesteuses, etc.), nous dirions volontiers pour tous les liquides de cultures microbiennes, s'il n'était imprudent en biologie de trop universellement généraliser.

Les divers sérums ici considérés sont d'après nos définitions antérieures (p. 170) des immunsérums ; on les désigne sous le nom de *sérums précipitants*. Leur propriété précipitante est rapportée à l'action de substances qu'ils renferment et qu'on appelle *précipitines*, lesquelles, par définition, sont des *immunisines*, puisqu'elles se trouvent dans des immunsérums et leur confèrent une de leurs propriétés caractéristiques.

Ces précipitations sont spécifiques, c'est-à-dire se produisent si, et ne se produisent que si on ajoute au sérum précipitant la culture filtrée qui a servi à la préparation des animaux fournisseurs du sérum. Ainsi le sérum précipitant la liqueur typhique provient d'un animal ayant reçu des injections de culture typhique ; il ne précipite pas les cultures cholérique, pesteuse, etc.

On pourrait, en raison de cette spécificité, appliquer la méthode de précipitation à certains *diagnostics bactériologiques*, et caractériser dans le sang, les humeurs ou les tissus du sujet infecté soit la précipitine spécifique, soit la substance microbienne précipitable.

On peut, p. ex., caractériser la précipitine spécifique dans le sang du *cheval morveux*, en mélangeant in vitro un peu de son sérum avec un liquide de culture morveuse filtrée : un précipité se produit. On peut caractériser la substance précipitable dans le sang du *bœuf charbonneux*, quelques heures avant la mort, en mélangeant in vitro un peu de son sérum avec le sérum d'un animal vacciné (donc ayant reçu des injections de cultures charbonneuses) contre le charbon : un précipité se produit ; on peut en constater la présence dans les tissus et notamment dans la rate, après la mort, en mélangeant in, vitro, un peu d'une macération aqueuse de tissus, et notamment de rate, avec le sérum d'un animal vacciné contre le charbon : un précipité se

produit. On peut enfin, chez l'homme atteint de *méningite cérébro-spinale,* caractériser la substance précipitable dans le liquide céphalo-rachidien, en mélangeant in vitro un peu de ce liquide, obtenu par ponction de l'espace sous-arachnoïdien, avec 1/5 de son volume de sérum d'animaux immunisés contre le méningocoque : un précipité se produit.

Cette précipitation spécifique des liquides de cultures microbiennes est assurément due à la présence dans ces liquides de quelque substance issue des microbes. Mais une question se pose : *le phénomène ne se produit-il que pour ces produits microbiens ?* Ou bien peut-il se manifester pour d'autres liqueurs ? Interrogeons l'expérience.

Considérons d'abord un liquide toxique, comme sont généralement les liquides de cultures microbiennes, le *sérum d'anguille,* dont nou avons déjà parlé. Si on mélange in vitro un peu de ce sérums d'anguille avec le sérum d'un lapin ayant reçu à plusieurs reprises des injections sous-cutanées de sérum d'anguille, on constate la formation d'un trouble, puis d'un précipité. Le sérum de lapin neuf ne précipite d'ailleurs pas le sérum d'anguille.

On obtient des résultats semblables quand la liqueur considérée n'est *pas toxique.* Injectons p. ex. sous la peau de lapins à plusieurs reprises (3 ou 4 fois p. ex. à 5 ou 6 jours d'intervalle, comme on fait dans la préparation de séro-anaphylaxie) du *sérum de cheval* (5 à 10 c.c. p. ex.), le sérum de ces lapins détermine in vitro, dans le sérum de cheval, auquel on le mélange en proportions convenables, un abondant précipité, qui apparaît, augmente et se condense, comme apparaissent, augmentent et se condensent les précipités spécifiques des liqueurs microbiennes et du sérum d'anguille. Le sérum de lapin neuf ne précipite d'ailleurs pas le sérum de cheval.

Et des exemples semblables pourraient être fournis à l'infini : on obtient des résultats équivalents en usant de *lait de vache,* de *blanc d'œuf de poule,* d'*exsudats* et de *transsudats,* de *liquide céphalo-rachidien,* de *macérations de viande,* ou plus généralement de *macérations d'organes, de liquides de kystes hydatiques,* etc., de *toute liqueur protéique* (ou à peu près), pourrait-on dire, même quand il s'agit de solutions de protéines purifiées, telles que fibrinogène, caséine, même quand il s'agit de solutions de protéines cristallisées (édestine du chanvre, gliadine du seigle, zéine du maïs, hordéine de l'orge).

Il y a toutefois des *exceptions* : les injections répétées de *protéoses*

et *peptones*, ou de *gélatine* ne conduisent pas à la production de précipitines correspondantes dans le sérum de l'animal injecté.

D'une façon générale (sous réserve des exceptions signalées), on peut dire que l'injection répétée d'une liqueur albumineuse dans l'organisme d'un animal communique à son sérum la propriété précipitante, ou, comme on dit encore, fait apparaître une précipitine dans son sérum. Donc, à côté des *précipitines microbiennes* que nous avions d'abord reconnues, il convient de placer des *précipitines chimiques*, ou *albumino-précipitines*, ou *protéo-précipitines*.

La propriété précipitante du sérum n'apparaît pas aussitôt après l'injection de la liqueur protéique, mais seulement après quelques jours. Ainsi, chez le lapin ayant reçu une seule injection sous-cutanée de sérum de cheval (il n'est pas nécessaire en effet de répéter l'injection pour obtenir un sérum précipitant), on reconnaît le premier indice d'un pouvoir précipitant le 8e jour après l'injection ; ce pouvoir précipitant augmente progressivement, pour atteindre sa valeur maxima vers le 15e jour après l'injection. Si à cette date on pratique une nouvelle injection de sérum de cheval, le pouvoir précipitant du sérum du lapin subit une chute brusque et considérable (traduisant assurément la formation d'un précipité in vivo). Mais, durant les jours suivants, le pouvoir précipitant augmente et ne tarde pas à dépasser la valeur maxima qu'il pouvait atteindre après l'unique injection. Et il en est de même après les injections suivantes : aussi a-t-on coutume de faire de 3 à 5 injections préparatoires, espacées de 6 à 8 jours l'une de l'autre, pour obtenir des sérums fortement précipitants.

Tous les animaux ne conviennent pas également bien à la production de sérums précipitants : *le lapin* semble être l'*animal de choix* ; les divers sérums précipitants qu'il a fournis ont toujours été parmi les plus actifs.

Il importe, pour obtenir des sérums précipitants, d'injecter la liqueur protéique fournie par un animal d'espèce donnée dans l'organisme d'un animal d'une autre espèce ; et il y a avantage, si l'on veut obtenir un sérum fortement précipitant, à choisir comme fournisseur de sérum précipitant un animal appartenant à une espèce nettement différente de l'espèce dont provient la matière précipitable.

Si, p. ex., on veut obtenir un sérum précipitant le sérum de cheval, on peut avantageusement s'adresser au lapin ; mais on commettrait une faute en s'adressant à l'âne ; non pas que le sérum d'âne traité par le sérum de cheval ne puisse précipiter ce dernier in vitro, mais son activité précipitante est faible.

La précipitation n'est pas également nette, rapide et abondante pour toutes proportions de substance précipitable et de sérum précipitant : il y a des *proportions optima,* qu'on fixera dans chaque cas particulier par quelques tâtonnements préalables : en général, on mélange 1 vol. de la liqueur précipitable (5 gouttes p. ex.) et 5 vol. du sérum précipitant (25 gouttes).

La réaction de précipitation est très sensible, c'est-à-dire qu'elle permet de manifester la présence d'une quantité remarquablement petite de substance précipitable. Ainsi on a obtenu, en mélangeant volumes égaux de sérum précipitant et de sérum de cheval fortement dilué par l'eau salée, un précipité, ou tout au moins un trouble facilement reconnaissable, même quand le sérum de cheval était dilué à 1 pour 10000 et parfois même à 1 pour 20000.

En général, pour fixer le *titre précipitant d'un sérum,* on en mélange un certain volume avec un égal volume de la liqueur précipitable plus ou moins diluée, et on détermine la dilution maxima pour laquelle on peut encore reconnaître au moins un trouble très net : dans l'exemple de tout à l'heure, le titre précipitant du sérum était 1/10000 et parfois même 1/20000.

Les précipitines sont détruites par la chaleur ; elles résistent à 60°, mais elles sont détruites par chauffage de 1/2 heure à 65-70°. Elles disparaissent d'ailleurs progressivement à la température ordinaire dans les sérums précipitants aseptiquement conservés : après quelques semaines, ces sérums ne sont plus du tout précipitants. Les expériences de précipitation doivent en conséquence être toujours faites avec des sérums fraîchement préparés.

Le précipité engendré est un complexe dans lequel entrent à la fois *un élément de la liqueur précipitable,* et *un élément du sérum précipitant* (il n'est pas nécessaire de donner ici la démonstration formelle de cette proposition). Il en résulte que les expressions que nous avons employées, substance précipitable et sérum précipitant, ne sont pas

très judicieusement choisies, car le sérum précipitant est à la fois précipitant et précipitable, tout comme la substance précipitable. Pour remédier en quelque mesure à cet abus verbal, on a proposé de désigner la *substance précipitable* sous le nom de *précipitinogène*, c'est-à-dire substance capable de provoquer la formation de précipitine chez l'animal dans l'organisme duquel elle est injectée.

Notons que les précipités engendrés se dissolvent dans les acides dilués ou dans l'ammoniaque. Il convient donc de ne pas faire la réaction de précipitation avec des liqueurs à réaction nettement acide, ou nettement alcaline; il serait nécessaire en pareil cas de neutraliser les liqueurs avant de les mélanger.

Les sérums précipitant les liqueurs microbiennes sont spécifiques; les sérums précipitant les protéines le sont aussi, et *leur spécificité est double*, étant à la fois *zoologique* et *chimique*. Elle est *zoologique*, car le sérum précipitant ne précipite la liqueur correspondante que si elle est fournie par l'espèce animale ou végétale ayant déjà fourni la liqueur employée pour la préparation du sérum précipitant. Elle est *chimique*, car le sérum précipitant ne précipite pas toutes les protéines fournies par un animal de l'espèce correspondante, mais la seule protéine, ou les seules protéines contenues dans la liqueur employée pour la préparation du fournisseur de sérum précipitant.

Sans doute, on a signalé quelques exceptions à cette règle de la double spécificité; mais il ne faut pas s'en émouvoir, car, d'une part, ces exceptions ne sont pas nombreuses, et, d'autre part, la précipitation est toujours beaucoup plus nette, plus rapide, plus volumineuse dans les cas où la condition de spécificité est satisfaite, que dans les cas où elle ne l'est pas.

Pratiquement, on admet que *cette loi de spécificité est universellement valable*, ce qui permet d'appliquer la réaction à la reconnaissance très délicate des protéines. Par cette expression très délicate, nous entendons dire d'abord que la réaction se produit pour une quantité infime de la substance protéique (quantité si petite que nos autres moyens d'investigation seraient en défaut), et

ensuite que la réaction permet de caractériser l'espèce animale ou végétale dont dérive la protéine considérée (ce que ne permettent généralement pas de faire les autres moyens dont nous disposons).

Voici quelques exemples d'applications pratiques. On peut être amené dans le cours d'une recherche expérimentale à injecter dans l'organisme d'un animal une liqueur protéique provenant d'un animal d'une autre espèce (du sérum de cheval chez le lapin, p. ex.) ; et on peut avoir intérêt à connaître la durée de la présence des protéines de cheval dans l'organisme du lapin, leurs localisations, etc. La réaction de précipitation, appliquée au sérum sanguin, aux humeurs, aux macérations d'organes, permet de résoudre élégamment et avec précision les questions posées.

On peut avoir à déterminer l'origine zoologique d'un produit albumineux : une tache de sang p. ex. est-elle de sang humain ou de sang de telle ou telle espèce donnée ; un lait est-il pur de tout mélange avec un autre lait (un lait d'ânesse a-t-il été additionné de lait de vache p. ex.), etc. ? Une tache de sang est d'origine humaine quand, macérée dans l'eau salée, elle donne une liqueur qui précipite par addition de sérum précipitant le sérum humain. Un lait d'ânesse ne renferme pas trace de quelque autre lait quand il ne précipite pas par addition de quelque sérum précipitant un lait quelconque, de ceux qu'on aurait pu lui ajouter.

Les protéines dont on provoque la précipitation, comme il vient d'être dit, ne semblent pas être, dans les liqueurs qui les contiennent, à l'état de vraie solution : on admet généralement qu'elles s'y trouvent à l'état de suspension très fine (*suspension colloïdale*, dit-on encore). Dès lors, les précipitations spécifiques ne seraient pas, à vrai dire, *des précipitations*, mais *des agglutinations*, c'est-à-dire des formations de groupements d'éléments minuscules tenus en suspension dans une liqueur.

Que cette conception soit exacte ou non, peu importe ; l'essentiel est qu'elle nous invite à rechercher si, à côté des sérums précipitants, il ne serait pas possible d'obtenir des sérums agglutinants proprement dits, c'est-à-dire capable d'agglomérer en amas plus ou moins volumineux des particules se trouvant en suspension homogène dans un liquide, p. ex. des microbes ou des cellules.

Supposons que nous disposions : 1° du sérum d'un animal qui a reçu plusieurs injections d'une culture micro-

bienne donnée (bacille typhique, ou vibrion cholérique, p. ex.), pratiquées comme pour l'immunisation ; 2° d'une culture bien homogène du microbe correspondant en milieu liquide (bouillon p. ex.). Mélangeons le sérum et la culture. Plus ou moins rapidement (selon la proportion du sérum et selon sa puissance, selon la nature du microbe, selon la température des liqueurs), l'aspect de la culture se modifie profondément : la culture était uniformément trouble avant l'addition du sérum ; on voit s'y former peu à peu un précipité floconneux fin d'abord, plus épais ensuite, qui tombe lentement au fond du tube, où il constitue un dépôt très nettement visible ; le liquide de culture est redevenu parfaitement clair et limpide.

Dans une culture homogène en bouillon, non additionnée de sérum, les microbes peuvent aussi se déposer au fond du tube ; mais le dépôt se fait toujours plus lentement qu'après l'addition du sérum. Il est d'ailleurs facile de distinguer les deux dépôts : si on agite le tube, les microbes de la culture sans sérum se répartissent dans le liquide en une émulsion homogène longuement persistante ; tandis que les microbes de la culture avec sérum se soulèvent en petits flocons généralement visibles à l'œil nu et qui ne tardent pas à se déposer de nouveau.

Reprenons l'essai de façon à suivre l'agglutination au microscope, en examinant le mélange culture homogène-sérum agglutinant en goutte pendante (bacille typhique p. ex.). Très rapidement, parfois presque instantanément, les microbes s'immobilisent, puis, peu à peu (assez vite si on incline à droite puis à gauche la préparation, pour favoriser les contacts microbiens) ils s'accolent entre eux, pour former de petits amas.

Quand on use de vibrions cholériques, on remarque tout d'abord que les vibrions encore mobiles, sont comme gênés dans leurs mouvements, ainsi qu'ils le seraient s'ils étaient englobés en une masse pâteuse, qui peu à peu les immobiliserait. Chaque espèce microbienne présente, lors de son agglutination, des particularités que révèle l'observation et que le technicien peut avoir intérêt à connaître ; mais ici nous ne faisons pas de technique.

Tous les microbes ne sont pas agglutinables également bien : parfois l'agglutination est réalisée en quelques

minutes à la température ordinaire ; parfois elle demande des heures (24 heures même) pour s'accomplir, même à la température optima de 45-50°.

Le bacille typhique et le vibrion cholérique sont très facilement agglutinés : les bacilles pesteux et tétanique le sont facilement, mais pourtant moins aisément que les deux premiers ; la bactéridie charbonneuse, le bacille diphtérique, le streptocoque, le pneumocoque ne s'agglutinent que péniblement ; on pourrait même citer des microbes qui sont extrêmement peu agglutinables, pour ne pas dire point du tout.

Les *microbes de choix* pour les études d'agglutination sont le *bacille typhique* et le *vibrion cholérique*.

Tous les animaux ne se prêtent pas également bien à la production d'un sérum agglutinant. Ici encore, comme pour les sérums précipitants, le lapin et le cheval conviennent admirablement bien ; le chien est médiocre, le cobaye détestable.

Le sang et son sérum ne sont pas les seuls liquides agglutinants : le liquide d'œdème consécutif à une compression veineuse, la lymphe, les exsudats séreux sont agglutinants aussi ; le liquide céphalo-rachidien, l'humeur aqueuse, par contre, ne le sont pas.

Les hématies peuvent être agglutinées comme les microbes. Injectons à 3 reprises à 6 jours d'intervalle du sang défibriné de cobaye dans le péritoine du lapin ; le sérum de celui-ci agglutine alors fort bien les hématies du sang défibriné de cobaye. Diluons à 1/10, ou même à 1/50 le sang défibriné de cobaye ; ajoutons-y au moins un égal volume de sérum de lapin préparé : on voit se former dans le mélange de petits grains qui s'accolent pour former de sombres flocons, se déposant rapidement au fond du vase, le liquide surnageant étant devenu parfaitement clair et incolore. Au microscope, la réaction peut être aisément suivie dans ses détails : on reconnaît que les hématies s'accolent entre elles, comme elles le font quand se forment les fameuses piles de monnaie depuis si longtemps signalées.

On pourrait ajouter que tous les animaux ne se prêtent pas également bien à la production d'un sérum agglutinant pour les hématies, le lapin étant encore ici l'animal de choix ; — et que toutes les hématies ne se laissent pas également bien agglutiner par le sérum qui leur correspond, les globules rouges du cobaye étant les éléments de choix.

Bref, on peut établir un parallèle rigoureux entre l'agglutination des hématies et celle des microbes, et si on peut distinguer deux catégories de sérums agglutinants pour la commodité de l'exposition, il n'y a en vérité qu'une seule agglutination.

L'agglutination est considérée comme la conséquence de l'action d'une substance contenue dans les sérums agglutinants et qu'on appelle *agglutinine*. Les sérums agglutinants sont, par définition, des immunsérums et les agglutinines sont des immunisines.

Les sérums agglutinants conservent intégralement leurs propriétés quand on les chauffe à 55-60° ; ils les perdent quand on les chauffe 1 heure à 65-70°. Ils les perdent lentement quand on les conserve aseptiquement à la température du laboratoire ; ils les conservent quand on les dessèche à température basse et qu'on conserve le résidu à l'abri de l'humidité.

Les sérums agglutinants agissent plus énergiquement sur les bactéries agglutinables à 37° qu'à 15°, et mieux encore à 45-50° qu'à 37°. Ils n'agglutinent pas seulement les microbes vivants, mais encore ceux qui ont été tués par chauffage modéré (à 60° p. ex.), ou par un antiseptique convenablement choisi (formol à 1 °/₀ p. ex.); les microbes chauffés à une température comprise entre 70 et 100° ont une agglutinabilité diminuée, et d'autant plus diminuée qu'ils ont été plus fortement et plus longuement chauffés (les microbes chauffés et tués par chauffage conservent en totalité ou en partie, selon la température et la durée du chauffage, la propriété de provoquer la formation d'agglutinine, chez les animaux auxquels ils sont injectés).

Dans l'agglutination d'ailleurs, *les microbes agglutinés ne sont pas tués*. Sans doute, quand on fait agir sur des microbes mobiles (bacille typhique, vibrion cholérique p. ex.) le sérum agglutinant correspondant, les microbes sont rapidement immobilisés, et cette immobilité peut faire croire à la mort du microbe ; mais si on ensemence en un milieu convenable un peu du microbe agglutiné, la culture se produit et ne diffère d'une culture normale ni par ses apparences morphologiques, ni par ses propriétés biologiques, ni par son action pathogène. Il y a plus :

malgré qu'ils aient été immobilisés, les microbes agglutinés peuvent se multiplier à l'infini dans le sérum agglutinant lui-même. Dans ces conditions toutefois, l'apparence de la culture diffère de celle que revêt une culture normale, en ce que les microbes ne sont pas régulièrement répartis dans le milieu, mais s'y présentent en amas d'éléments agglutinés.

Si, dans du sérum de lapin neuf, on ensemence des *bacilles pyocyaniques*, ils se développent en troublant régulièrement le liquide ; le microscope y révèle la présence de microbes isolés, également répartis dans le milieu. Si l'ensemencement se fait dans du sérum de lapin préparé par quelques injections de culture pyocyanique, les bacilles se multiplient sous forme de longs filaments segmentés, enchevêtrés les uns dans les autres et formant des grumeaux qui se déposent au fond du liquide, ce dernier demeurant clair.

Si on procède de même avec le *vibrion cholérique*, on constate la formation de masses (visibles à l'œil nu) de vibrions immobilisés, accolés les uns aux autres, ayant tendance à se déposer. Bref, l'agglutination ne modifie pas les propriétés générales des microbes, même quand ils sont plongés et se développent dans un sérum très fortement agglutinant.

Quand il s'agit de microbes difficilement agglutinables, on note simplement une tendance à se développer en séries : le bacille pyocyanique formait de longs filaments cloisonnés ; le pneumocoque (qui normalement est un diplocoque), cultivé sur sérum de lapins immunisés contre lui, forme de longs chapelets d'éléments, comme font les streptocoques normalement.

Tous les sérums capables d'agglutiner un microbe donné n'ont pas le même pouvoir agglutinant, ou, comme on dit encore, le même *titre agglutinant*. On définit de coutume le titre agglutinant d'un sérum la plus petite quantité de ce sérum qui, diluée dans 1 c. c. d'eau salée à 1 %, peut agglutiner nettement 2 mgr. d'une culture microbienne homologue jeune (faite depuis 24 heures, p. ex.). Il est tel sérum dont le titre agglutinant est égal à 1/5000 et même 1/10 000.

Après une seule injection préparatoire, le sérum ne devient pas immédiatement agglutinant ; il ne le devient qu'après plusieurs jours, son titre agglutinant augmentant jusqu'au 12e ou 15e jour.

La répétition des injections préparatoires, à 8 jours d'intervalle p. ex., augmente de plus en plus ce titre, jusqu'à lui faire atteindre la valeur considérable signalée ci-dessus. Toute nouvelle injection préparatoire ne détermine son plein effet qu'en 7 à 8 jours : immédiatement après chacune de ces injections, le titre agglutinant fléchit, et ce n'est qu'après 2 ou 3 jours qu'il recouvre et dépasse son titre d'avant l'injection.

Les injections destinées à provoquer la formation d'agglutinines peuvent se faire par une voie quelconque (sous-cutanée, intrapéritonéale, intramusculaire, intraveineuse) pourvu qu'elle soit *parentérale* : il semble que l'effet de l'injection intraveineuse soit un peu plus rapide et un peu plus grand que celui des autres injections.

L'agglutination est spécifique, c'est-à-dire que le sérum n'agglutine que le microbe ayant servi à la préparation du fournisseur de sérum : le sérum de lapin préparé par injections de bacilles typhiques agglutine ces bacilles, mais non les vibrions cholériques, et inversement.

Il faut toutefois, pour éviter méprises et malentendus, préciser. Quand on considère deux microbes nettement dissemblables, bacille typhique et vibrion cholérique, ou bacille pesteux et bacille tétanique, la loi de spécificité est absolue. Il en est autrement s'il s'agit d'espèces voisines : on sait qu'à côté des bacilles typhiques se placent les bacilles paratyphiques ; qu'à côté d'un vibrion cholérique on en place plusieurs autres, représentant des variétés d'une même espèce, ou peut-être des espèces voisines. La loi de spécificité, en pareil cas, n'est plus absolue ; le sérum n'agglutine pas exclusivement le microbe ayant servi à la préparation du fournisseur de sérum, mais encore les espèces ou variétés voisines.

On peut pourtant conserver, même dans ces cas, la loi de spécificité, à condition d'introduire une notion quantitative : le titre agglutinant d'un sérum est, en effet, toujours beaucoup plus grand pour le microbe ayant servi à la préparation que pour tout autre microbe, même très voisin du premier. Ainsi le sérum agglutinant fortement le bacille typhique agglutine aussi, mais faiblement les bacilles paratyphiques et très faiblement le coli-bacille.

Il convient ici de parler de *spécificité relative.*

Grâce à cette spécificité, on a pu utiliser les sérums agglutinants à la *caractérisation des espèces microbiennes.* — Voici p. ex. des microbes qu'on a isolés d'une eau d'alimentation : s'agit-il de bacilles typhiques, de paratyphiques, de coli-bacilles ? On cultivera le mi-

crobe sur gélose (auquel cas, on le mettra ensuite en suspension homogène dans l'eau salée), ou sur bouillon, puis on ajoutera un sérum précipitant soit l'un, soit l'autre de ces microbres, et on s'assurera : 1° que l'agglutination se produit ; 2° qu'elle se produit encore avec une dilution du sérum agglutinant employé suffisante pour agglutiner une culture authentique du microbe considéré.

Grâce à cette spécificité, on a pu *parfaire des diagnostics délicats*, par la méthode de *séro-diagnostic*, laquelle consiste à étudier les propriétés du sérum du malade et notamment ses propriétés agglutinantes. Cette méthode a été avantageusement appliquée à la fièvre typhoïde, pour la différenciation des cas dans lesquels il s'agit réellement d'une fièvre typhoïde, manifestation de l'activité du bacille typhique et des cas dans lesquels l'agent pathogène est quelque autre microbe, bacille paratyphique ou coli-bacille.

On a reconnu que, chez les malades présentant le tableau clinique de la fièvre typhoïde, et chez lesquels on avait pu manifester la présence du bacille typhique typique, le sérum sanguin est agglutinant pour une culture homogène de bacilles typhiques. Le titre agglutinant du sérum des typhiques varie suivant l'époque à laquelle a été faite la prise de sang : le sérum n'est qu'exceptionnellement agglutinant durant le premier septenaire ; il l'est généralement durant le second ; le titre agglutinant augmente à mesure que le temps passe, et atteint une valeur maxima (qui peut être au moins 1/1000) vers la fin de la maladie, ou le début de la convalescence ; il diminue ensuite progressivement pendant les 4 à 5 mois qui suivent le début de la convalescence ; après cette date, le sérum n'est généralement plus agglutinant.

Ceci posé, on détermine, dans les cliniques, le titre agglutinant du sérum du malade supposé atteint de fièvre typhoïde, vis-à-vis d'une culture de bacilles typhiques et comparativement vis-à-vis des microbes du même groupe pathogène, bacilles paratyphiques et coli bacilles, afin de constater, d'une part, que le sérum agglutine les bacilles typhiques, d'autre part, qu'il est plus agglutinant pour ces bacilles que pour les bacilles voisins. Nous nous bornons à indiquer ici le principe de la méthode, le reste est question de technique, que nous ne traitons pas.

Cette méthode donne d'excellents résultats pour les infections typhiques ; peut-être en pourrait-elle donner de bons pour quelques autres infections ; mais elle n'est pas d'application générale à toutes les infections ; tous les microbes pathogènes ne sont sans doute pas également aptes à engendrer des agglutinines ; tous les microbes pathogènes ne sont pas également aptes à s'agglutiner. En bactériologie, encore une fois, il ne faut pas généraliser de confiance : il importe d'examiner chaque cas particulier.

Dans le phénomène d'agglutination par sérum agglutinant, *l'agglutinine disparaît du sérum* ; elle disparaît, *mais n'est pas détruite : elle se fixe sur les éléments agglutinables et maintenant agglutinés.*

A un sérum agglutinant les bacilles typhiques, nous ajoutons une émulsion homogène de ces bacilles ; l'agglutination se produit ; nous filtrons sur papier, ou nous centrifugeons, pour séparer de la liqueur les amas microbiens. Le liquide n'a plus la propriété d'agglutiner de nouveaux bacilles typhiques (au moins si la quantité des bacilles antérieurement agglutinés est grande, et si le titre du sérum agglutinant n'est pas très considérable).

L'agglutinine disparaît donc durant l'agglutination. Elle est fixée sur l'élément agglutiné, d'où l'on peut, dans quelques cas et conditions tout au moins, la retirer en quantité suffisante pour qu'on puisse la manifester. Supposons que, par centrifugation, nous séparions les bacilles typhiques agglutinés et que nous les traitions par un peu de soude très diluée, ou même par un peu d'eau salée ; nous constaterons que ces liqueurs sont devenues légèrement agglutinantes (au moins quand l'agglutination première avait été faite par un sérum fortement agglutinant).

L'*agglutination des microbes* par les sérums agglutinants est un *phénomène double* ; elle comprend d'abord la *fixation de l'agglutinine* sur le microbe, et ensuite l'*agglutination proprement dite* : ce second phénomène ne se produit d'ailleurs pas toujours et nécessairement après le premier, il dépend de la constitution du milieu.

Nous avons traité une émulsion homogène de vibrions cholériques par le sérum agglutinant correspondant, les flocons se sont produits et déposés, nous centrifugeons pour tasser le dépôt et nous éliminons le liquide par décantation. Au dépôt microbien, nous ajoutons de l'eau salée et nous agitons, pour mettre en suspension les microbes agglutinés : l'émulsion ainsi obtenue est éminemment instable et quelques minutes suffisent pour que les microbes se déposent de nouveau, formant des amas semblables à ceux qu'ils avaient déjà antérieurement formés. Au lieu d'eau salée, employons de l'eau distillée pour émulsionner les microbes agglutinés : l'émulsion ainsi obtenue est remarquablement stable, aussi stable que l'émulsion de microbes n'ayant pas subi l'action d'un sérum agglutinant. Mais si nous ajoutons à cette émulsion des microbes (antérieurement agglutinés) dans l'eau distillée, un peu de sel (1 °/₀ de

sel p. ex.) les flocons se reproduisent et l'agglutination réapparaît. On aurait pu, sans rien changer au résultat, substituer au chlorure de sodium, des bromures, iodures, phosphates d'alcalis, du chlorure de calcium, etc.

Ainsi apparaissent clairement les deux phases de l'agglutination : la première correspondant à la *fixation de l'agglutinine sur le microbe* la seconde correspondant à la *réunion en amas sous l'influence des matières salines,* des éléments agglutinables chargés d'agglutinine ; — la seconde, pourrait-on dire encore, correspondant à *la réunion en amas des éléments agglutinables, sensibilisés à l'action agglutinante des sels par l'agglutinine.* Peut-être eût-il été sage de substituer au terme *agglutinine* le terme *sensibilisine* (que nous retrouverons ci-dessous), car l'agglutinine n'est pas à vrai dire un agent d'agglutination : ce sont les sels des sérums agglutinants qui sont les agents agglutinants pour les éléments sensibilisés.

Une comparaison s'impose ici entre l'*agglutination proprement dite des microbes unis à l'agglutinine spécifique et la floculation de substances diverses* qu'on peut obtenir en émulsion homogène.

Si on agite dans l'eau distillée de l'*argile* très finement divisée, on obtient un liquide légèrement trouble, très homogène d'aspect, qui traverse les filtres de papier sans se clarifier, et qui se maintient inaltéré des jours durant ; ce n'est que très tardivement que les particules en suspension se sédimentent. Mais on peut provoquer le dépôt rapide de l'argile en suspension et sous forme de flocons, quand on ajoute à la liqueur ce chlorure de sodium, ce chlorure de calcium, ou ces autres sels, qui tout à l'heure provoquaient l'agglutination des microbes sensibilisés par l'agglutinine, tandis que les microbes antérieurement agglutinés mis en suspension homogène dans l'eau distillée ne se déposent (comme l'argile en l'absence de sels) que très tardivement. C'est là une première analogie.

En voici une seconde. Quand le dépôt d'argile ou de microbes se fait spontanément, lentement, le sédiment est très compact, donc peu volumineux. Quand le dépôt soit de l'argile, soit du complexe microbe-agglutinine se fait sous l'influence des sels, rapidement, le sédiment ne se tasse pas. N'insistons pas : ces données élémentaires suffisent à établir que l'agglutination proprement dite n'est pas le phénomène capital de l'action exercée par le sérum dit agglutinant

sur les microbes correspondants ; elle n'est que la conséquence de la fixation de l'agglutinine sur le microbe, quand cette fixation se produit en milieu salé. Nous dirions volontiers que l'*agglutination proprement dite* n'est qu'un *accident*.

Avant de terminer cette digression, nous rappellerons encore les faits suivants. *Quand on fait agir sur du lait de vache de la présure*, on en provoque la coagulation ou caséification : la caséine se prend en une masse tremblotante enserrant les globules gras. La diastase de la présure, dit-on parfois, est coagulante ; en parlant ainsi, on traduit le fait visible, en réalité les apparences. Quand on fait agir la même présure sur du lait de vache additionné de 5 pour 1000 de citrate de soude, ou de 1 pour 1000 d'oxalate de soude, la caséification ne se fait pas ; la caséine reste dissoute et le lait ne paraît pas modifié. Il l'est pourtant, car il suffit de lui ajouter 1 pour 1000 de chlorure de calcium ou de chlorure de magnésium pour en déterminer la coagulation (qui se fait alors instantanément). La présure n'est donc pas coagulante : elle modifie la caséine sans la précipiter ; mais il se trouve que le corps nouvellement formé ne reste pas en suspension dans les liqueurs calciques. *La transformation de la caséine par la présure, voilà le fait essentiel*, mais que nous ne savons pas reconnaître directement ; *la coagulation proprement dite est un accident*, dû à la présence de sels calciques ; mais cet accident est pour nous révélateur de la transformation de la caséine. De même, *dans l'agglutination, la formation des flocons dans les liqueurs salines est révélatrice de l'union qui s'est accomplie entre le microbe et l'agglutinine du sérum agglutinant.*

La propriété d'agglutiner les microbes (et les hématies) n'appartient pas aux seuls immunsérums ; on l'a reconnue aussi à *certains sérums normaux* pour un certain nombre d'éléments figurés. Mais, entre les sérums agglutinants normaux et les immunsérums agglutinants, il y a *deux différences, une qualitative, une quantitative*. Les sérums agglutinants normaux n'ont *pas d'action spécifique*, limitée à un microbe donné où à des hématies provenant d'animaux d'une seule espèce : ils agissent indistinctement, non pas sans doute sur tous les microbes et sur toutes les hématies, mais au moins sur des microbes très divers et sur des hématies d'origines très diverses. D'autre part, la *puissance agglutinante des sérums normaux* est toujours faible (ils agglutinent parfois à 1/10, mais c'est là un maximum) ; celle des immunsérums spécifiques est, ou peut-être considérable (tel sérum agglutine à 1/10000).

Le sérum humain normal à forte dose agglutine le coli-bacille, le bacille typhique, le bacille pyocyanique, etc. ; le sérum de cheval normal agglutine le bacille typhique, le bacille tétanique, le vibrion cholérique, etc. Le sérum humain normal est agglutinant pour

maintes espèces d'hématies ; le sérum de poule normale agglutine les hématies de lapin, de chien, de rat, etc.

Comme les agglutinines spécifiques, les agglutinines des sérums normaux résistent au chauffage à 55° et sont détruites à 65-70°. Peut-être, entre ces températures, sont-elles un peu moins résistantes à l'action de la chaleur que les agglutinines spécifiques, mais ce ne sont là que des nuances.

CHAPITRE XII

LES SÉRUMS BACTÉRIOLYTIQUES, HÉMATOLYTIQUES, etc. ET L'ALEXINE

SOMMAIRE. — Injections intrapéritonéales de vibrions cholériques chez le cobaye neuf et chez le cobaye immunisé. — Le phénomène de Pfeiffer. — Bactériolyse in vitro. — Sérums bactéricides ou bactériolytiques. — La bactériolyse n'est pas un fait général. — Bactériolyse et bactériolysine. — Spécificité de la bactériolyse et conséquences. — Agglutination et bactériolyse. — Choléra-sérum désactivé à 55° et réactivé par addition de sérum frais de cobaye neuf ou de quelque autre animal. — Les deux agents de la bactériolyse : la substance thermolabile et la substance thermostabile : leur mise en évidence in vitro et in vivo. — Comment doivent agir ces deux substances. — Questions de mots : sensitilisine ou immunisine, alexine ou complément ; une comparaison photographique : la substance révélatrice. — La disparition de la sensibilisatrice lors de la sensibilisation ; la sensibilisatrice n'agit pas à la façon d'une diastase ; est-elle fixée ou détruite ? — L'alexine disparaît dans le cours de la bactériolyse : fixation ou consommation d'alexine. — De la surabondance de l'alexine. — L'alexine n'augmente pas de quantité par la préparation d'immunisation.

De l'hématolyse des globules rouges par un immunsérum correspondant. — Préparation d'un sérum hématolytique. — Réaction hématolytique obervée soit à l'œil, soit au microscope. — Hématolysine. — Spécificité de l'hématolyse. — Parallèle de l'hématolyse et de la bactériolyse. — Les deux agents de l'hématolyse ; leur action successive : la sensibilisatrice et l'alexine ; la formation d'un complexe par l'union du globule rouge et de la sensibilisatrice ; la disparition ou consommation d'alexine. — Le cas des stromas globulaires. — Faits essentiels et accidents : l'accident de la transformation granuleuse des vibrions, l'accident de l'hématolyse. — Bactériolyse et hématolyse. — Le problème des sérums cytotoxiques. — Quelques faits :

sérums leucotoxique, antiplaquette, spermatotoxique et autospermatotoxique. — Les sérums organotoxiques et les difficultés d'étude. — Un mot sur les bactériolysines et hématolysines des sérums normaux.

L'alexine des sérums normaux et l'alexine des immunsérums. — Identité des deux alexines. — Les sensibilisatrices des sérums normaux. — La famille des alexines rapprochée de la famille des hémoglobines. — Les microbes non bactériolysables sensibilisés par l'immunsérum correspondant fixent l'alexine : d'un moyen simple de le manifester. — Des accidents bactériolytique et hématolytique et du fait fondamental de la fixation de l'alexine. — Consommation de l'alexine par les précipités spécifiques. — Quelques applications : détermination rigoureuse d'une culture microbienne. — Sensibilisatrices du sérum des malades et des convalescents : détermination par la méthode de consommation de l'alexine ; conditions générales de la réaction. — Du cas particulier de la syphilis. — Comment, partant de données scientifiques, on a abouti à l'empirisme.

Si on injecte dans le péritoine du cobaye une certaine quantité d'une culture de vibrion cholérique, on constate, en faisant des prises du liquide péritonéal à divers moments après l'injection, que les vibrions conservent leur vitalité, leur mobilité et leur apparence normale ; ils se multiplient d'ailleurs rapidement et provoquent bientôt la mort de l'animal.

Si on injecte la même culture sous la peau du cobaye, l'animal résiste bien en général ; si on répète cette injection sous-cutanée à 2 ou 3 reprises, à quelques jours d'intervalle, l'animal ainsi traité présente une immunité très nette contre l'injection intrapéritonéale d'une quantité de culture cholérique qui tue rapidement le cobaye neuf. Nous appellerons le cobaye ainsi préparé *cobaye immunisé contre le vibrion cholérique.*

Si on injecte une certaine quantité de culture de vibrion cholérique dans le péritoine du cobaye immunisé contre lui, on constate, en faisant des prises du liquide péritonéal à divers moments après l'injection, que *les vibrions subissent d'importantes transformations.* Au lieu des microbes mobiles, de forme si typique, qu'on avait inoculés, on trouve des éléments arrondis, des *granules immobiles,* se colorant moins fortement par les réactifs histologiques que ne se coloreraient, sous l'influence du même traitement des vibrions normaux. Cette *transformation granuleuse des vibrions,* dans les conditions spécifiées, a reçu le

nom de *phénomène de Pfeiffer*. Comme cette transformation entraîne la mort des vibrions, on a parlé d'*action bactéricide ou microbicide,* mais généralement on parle plutôt de *bactériolyse* et d'*action bactériolytique.*

Le *phénomène de Pfeiffer* s'observe aussi *hors de l'organisme :* si on mélange sous le microscope du sérum de cobaye immunisé contre le vibrion cholérique (du *choléra-sérum,* dit-on), et une certaine quantité d'une culture de ce vibrion, on voit la transformation granuleuse se produire exactement comme elle se produit dans le péritoine du cobaye immunisé. Cette observation est intéressante, car elle montre que dans la transformation granuleuse du vibrion in vivo, le sérum seul, ou mieux la sérosité péritonéale seule intervient (et non quelque cellule, globule blanc ou cellule endothéliale du péritoine), puisqu'in vitro, en l'absence de toute cellule, le phénomène se produit avec toutes ses particularités. Cela conduit à parler de sérum et d'humeurs bactéricides ou bactériolytiques.

Le *vibrion avicide,* qui détermine chez la poule une maladie infectieuse et qui est pathogène pour le cobaye, se comporte comme le vibrion cholérique. Introduit dans le péritoine du cobaye neuf, il s'y multiplie sans subir aucune altération morphologique ou biologique et détermine la mort rapide; introduit dans le péritoine du cobaye immunisé contre lui (on réalise cette immunité en injectant à plusieurs reprises sous la peau du cobaye d'abord des vibrions tués, puis des vibrions vivants), il se comporte, comme se comportait dans des conditions équivalentes le vibrion cholérique : il subit la transformation granuleuse et le cobaye survit. Ici encore la transformation granuleuse s'observe en dehors de l'organisme, quand on mélange la culture de vibrion avicide et le sérum du cobaye immunisé contre lui.

On a reconnu des faits équivalents pour quelques autres vibrions, appartenant à des espèces voisines ; mais le fait est très loin d'être général. Si on a pu démontrer *la bactériolyse des spirilles,* notamment des *spirilles de la fièvre récurrente* et de quelques autres, si on a pu apercevoir des débuts tout au moins de bactériolyse du bacille typhique, on a constaté que les streptocoques, staphylocoques, pneumocoques, bacilles diphtériques, etc., ne sont pas bactériolysés dans les conditions où se produit la bactériolyse du vibrion cholérique.

Ce dernier, dont la sensibilité à l'action bactériolytique des sérums

est maxima et exquise est l'élément de choix pour l'étude de ce remarquable processus.

Le pouvoir bactériolytique du sérum n'apparaît pas aussitôt après l'injection sous-cutanée du vibrion : il ne se montre guère que 8 à 10 jours après cette injection ; il s'exagère d'ailleurs et considérablement, si on répète les injections immunisantes.

De même qu'on a rapporté les pouvoirs précipitant et agglutinant des immunsérums à des substances spéciales, les précipitines et les agglutinines, de même a-t-on, au moins au début de ces études, *rapporté le pouvoir bactériolytique,* dont nous nous occupons, à une *bactériolysine.*

Le pouvoir bactériolytique est assez instable ; le choléra-sérum aseptiquement conservé à la température ordinaire ne possède plus d'action bactériolytique au bout de 2 à 3 semaines. Il suffit d'ailleurs de le porter à 55°, pendant 1 heure et même moins, pour l'en priver totalement.

Nous avons antérieurement noté que les agglutinines ne sont détruites qu'à 65-70° ; c'est donc que les bactériolytines et les agglutinines sont distinctes. Le choléra-sérum, qui est à la fois agglutinant et bactériolytique, perd son action bactériolytique, mais conserve son pouvoir agglutinant, quand on le chauffe à 55°.

La bactériolyse est spécifique in vivo et in vitro, c'est-à-dire qu'elle ne se produit, sous l'influence des humeurs du cobaye préparé, que si le microbe considéré est celui-là même qui a servi à la préparation du cobaye. Le vibrion cholérique n'est pas bactériolysé par les humeurs du cobaye immunisé contre le bacille typhique ou le vibrion avicide ; le vibrion avicide n'est pas bactériolysé par les humeurs du cobaye immunisé contre le vibrion cholérique.

Ces observations ont fourni un *moyen d'identification* remarquablement simple et précis *pour les vibrions* tout au moins, et pour les quelques microbes qui présentent le phénomène de la bactériolyse. A-t-on observé et isolé un microbe dans une infection intestinale suspecte, et qu'on ne peut définir cliniquement, et veut-on savoir si ce microbe est bien le vibrion cholérique : il suffira de rechercher si ce

microbe subit la bactériolyse dans le péritoine du cobaye immunisé contre le vibrion cholérique, ou sous l'influence du choléra-sérum : si la bactériolyse se produit, il s'agit de vibrion cholérique ; si elle ne se produit pas, il s'agit de quelque autre microbe.

Il est facile de rendre au choléra-sérum chauffé à 55° le pouvoir bactériolytique qu'il a ainsi perdu, ou, comme on dit encore, de *réactiver le choléra-sérum désactivé par chauffage à 55° :* il suffit de lui ajouter du sérum frais de cobaye neuf (ce dernier sérum n'est pas bactériolytique quand on l'emploie seul). Il est, d'autre part, facile d'*activer* (c'est-à-dire de rendre bactériolytique) un sérum frais de cobaye neuf (qui n'est pas bactériolytique) : il suffit de lui ajouter du choléra-sérum désactivé à 55° ; il suffit du reste d'en ajouter très peu pour activer une grande quantité de sérum frais normal. Si on injecte dans la cavité péritonéale d'un cobaye neuf un mélange de culture cholérique et de choléra-sérum désactivé (dans lequel la bactériolyse ne se produit pas in vitro), la bactériolyse s'y produit : les petites quantités d'exsudat contenues dans le péritoine ont suffi à réactiver le choléra-sérum injecté.

Pour réactiver un choléra-sérum désactivé de cobaye, il n'est pas nécessaire d'ajouter du sérum de cobaye ; on peut utiliser un autre sérum, ceux de chien, de lapin, de cheval, de rat, d'homme, etc.

Tous ces faits se présentent identiques quand on expérimente avec le vibrion avicide et l'immunsérum correspondant.

Ces observations ont conduit à imaginer que le choléra-sérum actif renferme *deux substances,* l'une *thermolabile,* détruite par chauffage de 1 heure à 55°, l'autre *thermostabile,* résistant à cette température (et que seules détruiraient des températures supérieures à 65°). La première est une *immunisine spécifique du choléra-sérum* ; elle n'existe pas dans le sérum normal ; elle n'existe que dans le sérum des animaux immunisés contre le vibrion cholérique ; elle apparaît dans ce sérum et dans les humeurs sous l'influence de la préparation d'immunisation. La seconde est une *substance banale* existant dans tous les sérums d'espèces diverses (en proportions d'ailleurs très

variables selon l'espèce considérée); elle n'est du reste pas plus abondante dans le sérum d'un animal immunisé que dans le sérum d'un animal neuf appartenant à la même espèce zoologique.

La séparation et la mise en évidence de ces deux éléments de la bactériolyse, que nous avons faite antérieurement in vitro, peut se faire in vivo. On a constaté que le *liquide de l'œdème* produit chez le cobaye immunisé contre le vibrion cholérique, par compression veineuse, n'est pas bactériolytique (des vibrions cholériques ne sont pas bactériolysés à son contact), mais le devient quand on lui ajoute du sérum de cobaye neuf, ou de tout autre animal non préparé. La substance thermostabile passe dans le liquide d'œdème; la substance thermolabile n'y passe pas.

Les deux substances nécessaires pour assurer la transformation granuleuse des vibrions doivent-elles agir simultanément sur les vibrions, ou peuvent-elles agir successivement, et, dans ce dernier cas, *est-il nécessaire que ce soit l'une, la thermolabile* p. ex., *dont l'action précède celle de l'autre, la thermostabile, ou inversement?*

Mettons en suspension dans un choléra-sérum désactivé à 55° des vibrions cholériques, puis après 1/2 h. ou 1 h. centrifugeons pour les séparer du sérum, décantons celui-ci, puis alternativement et à plusieurs reprises lavons à l'eau salée et centrifugeons, pour enlever jusqu'aux dernières traces de choléra-sérum. Mettons alors les vibrions en suspension dans du sérum frais de cobaye neuf : la transformation granuleuse se produit. Il n'est donc pas nécessaire que les deux substances qui interviennent dans la bactériolyse agissent simultanément.

Répétons l'essai en intervertissant l'ordre des substances, faisons agir sur les vibrions cholériques d'abord du sérum frais de cobaye neuf, centrifugeons et lavons à l'eau salée alternativement pour éliminer totalement le sérum, puis mettons les vibrions en suspension dans le choléra-sérum désactivé par chauffage à 55° : la bactériolyse ne se produit pas.

Ces expériences établissent donc que *la bactériolyse peut résulter de l'action successive des deux substances* dont nous avons reconnu la nécessité, *à condition que la substance thermostabile agisse la première.*

La *substance thermostabile* est une *immunisine* en raison de son origine ; elle n'est pas une bactériolysine, puisqu'elle ne fait pas subir la bactériolyse au vibrion quand elle agit seule sur lui. C'est la *substance thermolabile* qui, à vrai dire, est bactériolysine : mais lui donner ce nom serait regrettable, car elle n'est bactériolytique qu'à condition de rencontrer des vibrions préparés pour subir son action, ou, comme on peut encore dire, sensibilisés à son action.

On a, très sagement, renoncé à ce mot bactériolysine (qui, somme toute, n'a servi que pendant cette période où l'on ignorait la nécessité de deux agents distincts). On a proposé d'appeler la *substance thermostabile, substance sensibilisatrice* ou simplement *sensibilisatrice,* parce qu'elle sensibilise le vibrion cholérique à l'action bactériolytique de la seconde substance, et pour indiquer son rôle dans la bactériolyse, ou encore *immunisine,* parce qu'elle est élément spécifique de l'immunsérum considéré, et pour rappeler son origine. On a proposé d'appeler la *substance thermolabile, alexine* (c'était le terme générique par lequel on désignait des substances contenues dans les sérums normaux et qui sont les agents du pouvoir microbicide que possèdent les sérums de certains animaux pour certaines bactéries), ou *complément,* parce que, dit-on, son action complète l'action de la substance thermostabile sur les vibrions.

S'il n'était toujours regrettable d'introduire un mot nouveau pour désigner une chose ou un phénomène déjà dénommé, je proposerais l'expression *substance révélatrice,* ou simplement *révélatrice* pour désigner la substance thermolabile, alexine ou complément, et cela en raison de la comparaison suivante, qui permet de bien fixer la part de l'un et de l'autre agent de la bactériolyse.

Lorsque la lumière a agi sur la plaque photographique, l'image ne paraît pas, et l'examen le plus minutieux de la plaque ne permet pas de décider si elle a été éclairée ou non. Pour faire apparaître l'image, et par là établir que la plaque a été éclairée ou impressionnée par la lumière, il faut employer un révélateur. De même, quand la sensibilisatrice seule a agi sur le vibrion, rien ne permet de reconnaître que cette action s'est produite ; pour révéler que cette action a eu lieu, il faut faire intervenir l'alexine, qui se montre par là révélatrice.

Ceci dit, oublions cette dénomination : la sensibilisatrice et l'alexine

ont déjà trop de noms pour que nous nous permettions d'en proposer de nouveaux. Et revenons à l'étude des faits.

Sous l'influence du choléra-sérum désactivé, les vibrions cholériques ont été sensibilisés. Que devient la sensibilisatrice en agissant sur eux? Persiste-t-elle dans la liqueur, comme persiste une diastase dans la liqueur où elle a exercé son action? Ou bien disparaît-elle en agissant; et, dans cette dernière hypothèse, est-elle détruite (comme est détruit le sucre en même temps qu'il réduit la liqueur de Fehling avec laquelle on le chauffe) ou s'unit-elle à l'élément sensible en le sensibilisant (comme l'acide neutralisant un alcali s'unit à lui, pour former une combinaison dont on peut ensuite le retirer en usant d'artifices convenables)?

Dans un choléra-sérum inactivé à 55° et dilué par addition de plusieurs volumes d'eau salée, nous mettons en suspension des vibrions cholériques; puis, après quelque temps (1/2 h. ou 1 h. p. ex.), nous centrifugeons et décantons le liquide ne renfermant plus de vibrions (ce sera le choléra-sérum 2). Il se peut (surtout si le choléra-sérum dont on s'est servi avait, avant chauffage, un pouvoir bactériolytique faible ou modéré, s'il a été fortement dilué et si le nombre des vibrions qu'on y a introduits était considérable), il se peut que l'addition de sérum frais de cobaye neuf au choléra-sérum 2 ne le réactive pas (c'est-à-dire que ce mélange ne bactériolyse pas de nouveaux vibrions qu'on y introduit), comme si le choléra-sérum 2 ne renfermait plus de sensibilisatrice.

Si le choléra-sérum, dont on s'est servi, était fortement bactériolytique, si la dilution à laquelle on l'a soumis a été modérée, si la quantité des vibrions mis en suspension dans ce choléra-sérum inactivé était faible, il faudrait y introduire de nouveaux vibrions, 2, 3, 4,... *n* fois, avant d'arriver au résultat de tout à l'heure (c'est-à-dire à un choléra-sérum *n*, qu'on ne peut plus réactiver par addition de sérum frais de cobaye neuf), mais on finirait toujours par y arriver : on parvient toujours à faire disparaître la sensibilisatrice dans la liqueur.

De là, on peut conclure que *la sensibilisatrice, disparaissant en sensibilisant,* ne saurait être assimilée à une diastase, qui ne disparaît, ni ne diminue en agissant.

La sensibilisatrice est-elle détruite lors de la sensibili-

sation des vibrions ; ou se fixe-t-elle sans se détruire sur ces vibrions ? Il est difficile de répondre à cette question dans le cas particulier que nous étudions ; nous y reviendrons ci-dessous, à propos d'hématolyse, dans des conditions plus favorables.

Provisoirement pourtant, et par analogie, nous sommes amenés à admettre que la sensibilisatrice se fixe sur l'élément sensible pour former avec lui un complexe. N'avons-nous pas reconnu (p. 185) que, dans quelques conditions tout au moins, il est possible de faire réapparaître un peu de toxine libre ou de venin libre, en partant de complexes neutres toxine-antitoxine ou venin-antivenin. N'avons-nous pas reconnu (p. 241) que, dans la précipitation des protéines par les sérums spécifiques, le précipité est constitué par la substance dite précipitable et par des éléments contenus dans le sérum précipitant ; etc. Or antitoxines, antivenins, précipitines, etc., sont des immunisines comme les sensibilisatrices, produites comme elles, dans les mêmes conditions générales. Et si cette comparaison, si ce rapprochement ne suffisent pas en bonne logique pour légitimer totalement notre hypothèse, ils lui fournissent pourtant un certain appui. Notre hypothèse n'en acquiert pas à coup sûr le caractère de vérité scientifique démontrée, mais elle en acquiert au moins quelque vraisemblance. Et nous la consoliderons ci-dessous.

Le pouvoir d'absorber la sensibilisatrice que nous attribuons aux vibrions cholériques n'est pas illimité : nous en avons pour preuve la nécessité où nous nous sommes trouvés d'introduire à plusieurs reprises de nouveaux vibrions dans un choléra-sérum fortement bactériolytique, désactivé à 55°, pour lui enlever la totalité de la sensibilisatrice.

Les vibrions cholériques sensibilisés (par immersion dans un choléra-sérum inactivé à 55°) sont transformés en granules par l'alexine. *Comment se comporte l'alexine?* Demeure-t-elle dans la liqueur après avoir agi, comme une diastase ? Disparaît-elle du milieu en agissant, et, dans cette hypothèse, est-elle détruite ou est-elle fixée ? Ce sont là les questions que nous nous posions tout à l'heure pour la sensibilisatrice, et que nous nous posons nécessairement pour l'alexine.

Lorsque des vibrions sensibilisés ont été immergés dans

un sérum frais de cobaye neuf et qu'après avoir subi la bactériolyse, ou transformation granuleuse, ils en ont été séparés par centrifugation, le sérum a perdu la propriété de bactériolyser de nouveaux vibrions sensibilisés qu'on y introduirait. *L'alexine, en agissant, a donc disparu.* Est-elle détruite, s'est-elle fixée ? On ne le saurait dire en vérité. Par analogie avec ce qui semble se passer pour les sensibilisatrices, certains auteurs se sont cru autorisés à admettre que l'alexine se fixe sur l'élément sensibilisé, et que cette fixation provoque, par un mécanisme parfaitement inconnu, la transformation granuleuse des vibrions. C'est là encore, on ne saurait assez y insister, une hypothèse et non un fait scientifiquement établi.

Cette conception a conduit ces auteurs à parler de la *fixation de l'alexine sur les éléments sensibilisés.* Mais parler de fixation, c'est dépasser les faits, car, en vérité, nous pouvons constater la disparition de l'alexine, mais c'est tout ce que nous constatons. Remarquons qu'il nous a été possible, au moins parfois, au moins dans certaines conditions, de reconnaître la dissociation de complexes venin-antivenin, etc. ; mais jamais on a pu extraire même des traces d'alexine en partant de vibrions bactériolysés.

Aussi conviendrait-il, à notre avis, de substituer au mot *fixation de l'alexine* qui dépasse les faits observés, un mot moins compromettant, le mot *consommation de l'alexine,* p. ex., qui rappelle bien le fait essentiel (la disparition de l'alexine), mais qui ne précise pas le sort qui lui a été fait. *Les sérums bactériolytiques,* dirons-nous, *renferment une sensibilisatrice, qui, en se fixant sur le vibrion correspondant, lui confère la propriété, qu'il ne possédait pas, de consommer l'alexine existant en tout sérum,* qu'il soit sérum normal, ou immunsérum.

Avant d'abandonner le sujet de la bactériolyse, nous présenterons encore deux remarques.

Dans un choléra-sérum fourni par un cobaye immunisé, *il y a surabondance de sensibilisatrice comparativement à l'alexine.* Si, dans un choléra-sérum, on introduit des vibrions cholériques, ils absorbent une partie de la sensibilisatrice et la totalité de l'alexine (si la quantité des vibrions introduits est suffisante). Dès lors, ce sérum débar-

rassé des vibrions par centrifugation peut encore sensibiliser de nouveaux vibrions, mais sans les bactériolyser ; il ne les bactériolyse que si on lui ajoute du sérum frais d'animal neuf. On peut dire que, dans les sérums bactériolytiques, il y a trop de sensibilisatrice pour l'alexine présente. Si donc on se propose de bactériolyser des vibrions par addition de choléra-sérum inactivé à 55° et de sérum frais de cobaye normal, il suffit d'ajouter une très petite quantité du choléra-sérum ; mais il faut ajouter beaucoup plus de sérum frais.

La quantité d'alexine contenue dans le sérum d'un animal d'espèce donnée est très sensiblement la même que l'animal soit neuf, ou qu'il soit immunisé. Supposons qu'à une certaine masse de vibrions cholériques nous ajoutions du choléra-sérum inactivé à 55° en quantité suffisante pour que les vibrions se chargent de sensibilisatrice au maximum. Faisons deux parts égales de ces vibrions sensibilisés, ajoutons-leur respectivement du sérum de cobaye normal et du choléra-sérum non chauffé (la sensibilisatrice qu'il contient n'intervient plus en rien, puisque les vibrions sont supposés avoir été sensibilisés au maximum), et déterminons les quantités minima de ces deux sérums, permettant d'obtenir la bactériolyse totale : ces quantités sont très sensiblement égales.

Les vibrions ne sont pas les seuls éléments organisés susceptibles de subir une modification profonde sous l'influence d'immunsérums correspondants. Nous avons noté incidemment la bactériolyse de quelques rares microbes non vibrioniens ; nous étudierons maintenant *l'hématolyse,* c'est-à-dire une modification profonde que les globules rouges, ou hématies, peuvent subir sous l'influence d'immunsérums correspondants, et dans des conditions et par un mécanisme identiques.

L'*hématolyse,* ou *dissociation du complexe constitué par le stroma globulaire et par l'hémoglobine,* se produit sous maintes influences. On la provoque, in vitro, en ajoutant au sang défibriné 2 ou 3 volumes d'eau distillée, ou de l'éther (par petites fractions, en agitant après toute addition nouvelle), ou du sérum provenant d'animaux de certaines autres espèces, ou des toxines microbiennes convenablement choisies (streptococcique, staphylococcique p. ex.) ou certains venins. On reconnaît qu'il y a eu hématolyse : 1° à ce que le sang hématolysé présente un aspect différent de celui du sang normal : il est devenu ranslucide et de couleur plus sombre, rouge cerise au lieu de rouge vif ; 2° à ce qu'après centrifugation il demeure également rouge dans toutes ses couches, tandis que le sang non hématolysé se sépare en deux couches, une inférieure rouge, une supérieure claire et incolore. Nous ne citons ces hématolyses que pour mémoire, car nous ne

nous occuperons ici que d'hématolyses produites par des immunsérums spécifiques, et dont l'histoire est calquée sur celle de la bactériolyse.

Injectons sous la peau ou dans le péritoine d'un cobaye quelques c. c. de sang défibriné de lapin, ou des hématies de lapin débarrassées du sérum par centrifugations et lavages répétés à l'eau salée ; renouvelons l'injection 4 ou 5 fois à 5 ou 6 jours d'intervalle, et, 8 jours environ après la dernière injection préparatoire, saignons le cobaye pour recueillir son sérum. Si, à 4 ou 5 gouttes de sang défibriné de lapin, diluées dans 1 c. c. d'eau salée à 1°/₀, nous ajoutons 3 à 4 c. c. de sérum du cobaye préparé, nous constatons que les hématies qui étaient en suspension homogène s'agglutinent (la préparation du cobaye, que nous avons ici pratiquée, ne diffère pas de celle que nous avons faite pour obtenir un sérum agglutinant les hématies) en volumineux amas, qui se réunissent au fond du liquide. Mais c'est là un phénomène temporaire ; bientôt les amas semblent fondre, comme fond un morceau de sucre dans l'eau, et le pigment sanguin diffuse visiblement dans le milieu ambiant : le sang prend l'apparence très typique du sang hématolysé.

La même observation se fait au microscope : on reconnaît encore l'*agglutination précoce, suivie de l'hématolyse tardive.* On constate d'ailleurs que *le stroma globulaire décoloré persiste,* sous forme de masse arrondie transparente.

Si les hématies employées pour préparer le cobaye sont des hématies nucléées d'oiseau (poule p. ex.), on constate que le sérum de ce cobaye est hématolytique pour les globules rouges de poule : le noyau de l'hématie est d'ailleurs absolument respecté dans sa forme, sa structure, ses colorabilités, tandis que le protoplasma qui l'entoure s'est décoloré, a perdu sa colorabilité classique par l'éosine, et a changé sa forme ovoïde en une forme sensiblement sphérique.

Le pouvoir hématolytique du sérum de cobaye préparé n'apparaît qu'un certain temps après l'injection des hématies, et, en général, une seule injection préparatoire ne suffit pas à faire apparaître un pouvoir hématolytique bien

net : il faut multiplier les injections, en faire au moins 3 ou 4, sinon plus, pour obtenir des résultats satisfaisants.

On a tout d'abord rapporté cette propriété hématolytique du sérum de cobaye préparé à la présence d'une substance appelée *hémolysine* ou *hématolysine*, qui est pour le sérum hématolytique ce que la bactériolysine est pour le sérum bactériolytique.

Comme la bactériolysine, l'hématolysine est détruite par chauffage du sérum hématolytique (1/2 h. à 1 h. à 55°). Elle se détruit même assez rapidement (quelques semaines) dans le sérum hématolytique conservé aseptiquement à la température ordinaire.

Comme la bactériolyse, l'hématolyse par immunsérum est spécifique : elle ne se produit que pour des hématies de même espèce que celles ayant servi à la préparation de l'animal fournisseur du sérum hématolytique.

Comme le sérum bactériolytique, le sérum hématolytique, qui a perdu sa propriété hématolytique à 55°, peut être réactivé par addition de sérum frais de cobaye neuf, ou même de sérum frais d'un animal quelconque. On peut aussi activer, c'est-à-dire rendre hématolytique pour les hématies de lapin p. ex., le sérum de cobaye neuf (qui n'est pas hématolytique pour les hématies du lapin), en lui ajoutant un peu d'immunsérum hématolytique (pour les hématies du lapin) désactivé à 55°.

L'hémolysine est en réalité constituée par 2 éléments, l'un *thermostabile*, résistant à 55°, spécifique, apparaissant dans l'immunsérum du fait de la préparation, l'autre *thermolabile*, détruit à 55°, susbstance banale, qu'on trouve en tout sérum d'animal quelconque préparé ou non-préparé.

Pour assurer l'hématolyse les deux substances, thermostabile et thermolabile, n'ont pas besoin d'agir simultanément ; elles peuvent agir successivement, pourvu que la substance thermostabile agisse d'abord, et que la substance thermolabile agisse ensuite. Ajoutons en effet à du sang défibriné de lapin du sérum de cobaye préparé par injections d'hématies de lapin, sérum désactivé par chauffage à 55° (l'hématolyse ne se produit pas), laissons en contact quelque temps, puis, par centrifugations alternant avec lavages à l'eau salée, débarrassons les hématies de toute trace de sérum. A ces hématies ainsi traitées, ajoutons un sérum quelconque d'animal neuf (ou si l'on veut d'animal préparé) n'ayant pas été chauffé à 55° ; l'hématolyse se produit. Elle ne se produit pas si on fait agir en sens inverse les deux liqueurs sur les hématies.

A ces deux agents d'hématolyse, nous donnons les noms déjà

adoptés dans l'étude de la bactériolyse : la substance thermostabile est une *sensibilisatrice* ; la substance thermolabile est une *alexine* (nous démontrerons qu'on peut dire est l'alexine, car c'est le même agent qui intervient en hématolyse et en bactériolyse).

On démontre ici, comme dans l'étude de la bactériolyse, que *la sensibilisatrice se fixe sur l'hématie qu'elle prépare à l'hématolyse, en formant avec elle un complexe.* On démontre que l'alexine disparaît de la liqueur en présence des hématies sensibilisées ; mais rien ne prouve qu'elle se fixe sur celles-ci.

Voici des *faits expérimentaux* justifiant ces propositions.

La sensibilisatrice se fixe sur l'hématie. Immergeons des hématies de lapin dans du sérum hématolytique correspondant de cobaye, inactivé à 55° (on a dilué fortement ce sérum, afin de n'avoir pas trop de sensibilisatrice présente) ; puis centrifugeons pour éliminer les hématies sensibilisées : le liquide a perdu la propriété de sensibiliser des hématies de lapin qu'on lui ajouterait de nouveau : la sensibilisatrice a disparu lors de la première sensibilisation.

Si, aux globules rouges sensibilisés qu'on a séparés tout à l'heure du liquide par centrifugation, on ajoute de l'acide chlorhydrique très dilué, et si on centrifuge de nouveau, la liqueur ainsi isolée possède un pouvoir sensibilisateur démontrable, mais faible : on a ainsi libéré la sensibilisatrice d'un complexe hématie-sensibilisatrice, dont elle faisait partie ; la sensibilisatrice disparaît mais n'est pas détruite lors de la sensibilisation.

L'alexine disparaît lorsque s'accomplit l'hématolyse. A des globules de lapins sensibilisés par le sérum hématolytique correspondant inactivé à 55°, ajoutons du sérum frais de cobaye neuf ; l'hématolyse se produit. Centrifugeons, pour éliminer les stromas décolorés, puis ajoutons à la liqueur de nouvelles hématies de lapin sensibilisées comme les premieres ; l'hématolyse ne se produit pas. C'est donc que l'alexine a disparu lors de la première hématolyse.

Mais alors qu'on a pu retirer de la sensibilisatrice du complexe hématie-sensibilisatrice par des moyens convenablement choisis, on a constamment échoué quand on a tenté de retirer l'alexine des stromas d'hématies hématolysées. Aussi répéterons-nous ce que nous disions lorsque nous étudions la bactériolyse : mieux vaudrait parler de consommation d'alexine que de fixation d'alexine.

Nous pourrions énoncer de nouveau les deux remarques que nous faisions ci-dessus (p. 263). Comparativement à l'alexine, la sensibilisatrice est surabondante. La quantité d'alexine contenue dans le

sérum d'un animal d'espèce donnée est la même, que l'animal soit neuf ou qu'il ait été préparé. Les faits sur lesquels reposent ces propositions sont exactement les mêmes que ceux qui ont été présentés dans l'étude de la bactériolyse.

L'hématie est constituée par le *stroma globulaire* et par le *pigment* dont il est chargé. *Quel est celui de ces deux éléments qui fixe la sensibilisatrice et qui consomme l'alexine?* On établit clairement que c'est le stroma : voici les faits.

Ajoutons à du sang défibriné de lapin 2 volumes d'eau distillée, l'hématolyse se produit. Centrifugeons, pour séparer les stromas et décantons la liqueur ; puis ajoutons de l'eau salée et centrifugeons à plusieurs reprises, pour enlever toute trace de la liqueur primitive. Ajoutons à ces stromas lavés un sérum hématolytique, les stromas en absorbent la sensibilisatrice, comme l'eussent fait des hématies intactes (en effet la liqueur séparée des stromas et chauffée à 55° est inapte à sensibiliser des hématies nouvellement introduites) ; ils en consomment aussi l'alexine, comme l'eussent fait des hématies intactes (en effet la liqueur séparée des stromas n'hématolyse pas des hématies sensibilisées nouvellement ajoutées).

Par contre, le liquide rouge engendré lors de l'hématolyse par l'eau distillée, débarrassé des stromas par centrifugation, ne fixe pas la sensibilisatrice et ne consomme pas l'alexine : rien n'est plus simple que de le démontrer par des expériences calquées sur les précédentes.

Les mêmes phénomènes se passent donc quand on traite par un même sérum hématolytique soit des hématies inaltérées, soit des stromas privés d'hémoglobine : il y a fixation de sensibilisatrice et consommation d'alexine. Il y a toutefois une différence : dans un cas, il y a diffusion de l'hémoglobine dans le milieu ambiant ; dans l'autre cas, il n'y a pas diffusion d'hémoglobine, mais simplement sans doute parce que l'hémoglobine est absente.

N'est-il pas légitime dès lors de dire que la diffusion de l'hémoglobine, qui traduit généralement à nos yeux les modifications imprimées aux hématies par le sérum hématolytique, n'est qu'un *accident,* comme nous disions ci-dessus (p. 252) que la précipitation proprement dite des protéines dans le phénomène de précipitation par sérum précipitant spécifique n'est aussi qu'un accident.

L'accident n'est pas le fait essentiel ; il permet simplement de savoir que le fait essentiel s'est produit. Ainsi l'asphyxie curarique n'est-elle aussi qu'un accident (et qu'on peut éviter par la respiration artificielle) et non pas le fait essentiel de l'intoxication curarique : le fait essentiel est la paralysie consécutive à la suppression des rapports fonctionnels normaux du muscle strié et du nerf moteur ; l'accident en est la simple manifestation.

Qu'il s'agisse de bactériolyse ou d'hématolyse, dans les deux cas, il y a fixation d'une sensibilisatrice spécifique et consommation d'alexine ; dans les deux cas aussi, il y a un accident ; mais cet accident diffère selon qu'il s'agit de bactériolyse ou d'hématolyse : pour les vibrions cholériques, l'accident est la transformation granuleuse ; pour les hématies, c'est la libération d'hémoglobine. Si nous considérons les seuls accidents, comme on l'a fait tout d'abord, nous ne sommes pas autorisés à identifier la bactériolyse et l'hématolyse : dans un cas, il s'agit d'un accident histologique (modification de la structure et de la colorabilité protoplasmique) ; dans l'autre cas, il s'agit d'un accident physico-chimique (perte de l'hémiperméabilité de la zone périphérique de l'hématie). Mais si, par delà les accidents, nous recherchons la cause qui a conduit à leur production et les faits qui les ont précédés, en employant des artifices convenables, le rapprochement, l'*identification de la bactériolyse et de l'hématolyse s'imposent : les deux phénomènes ne sont que deux apparences distinctes d'un seul et même processus.*

On a reconnu que maints *sérums* provenant d'animaux *normaux* sont *bactériolytiques* (ou bactéricides) ou *hématolytiques*. Diverses espèces de vibrions (même le vibrion cholérique, pourvu qu'il ne soit pas très pathogène) introduits dans le péritoine du cobaye neuf subissent la transformation granuleuse. Les sérums du chien ou du lapin normaux sont microbicides pour les bactéridies charbonneuses : si on introduit dans ces sérums une petite quantité de bactéridies, on constate, quelques heures plus tard, que le nombre des bactéridies vivantes a diminué. Les mêmes sérums sont hématolytiques pour les globules rouges de la chèvre ou du cobaye, etc.

Comme les immunsérums bactériolytiques ou hématolytiques, ces sérums normaux agissent par deux substances, l'une qui est l'équiva-

lente des sensibilisatrices, et qui, comme celles-ci, se fixe sur les microbes, ou sur les hématies, l'autre, qui est l'alexine, que consomment les microbes, ou les hématies sensibilisées.

Entre les sensibilisatrices des sérums normaux et les sensibilisatrices des immunsérums, il y a sans doute des nuances, sinon de véritables différences (p. ex. ces dernières résistent un peu mieux à l'action de la chaleur que les premières); mais il n'y a pas lieu d'insister sur ces minuties.

L'alexine est d'ailleurs toujours la même substance qui assure la bactériolyse et l'hématolyse par immunsérums, en agissant sur les éléments sensibilisés.

Il est inutile de relater les expériences sur lesquelles s'appuient ces propositions : elles ne diffèrent pas notablement de celles qui nous ont permis d'analyser les mécanismes de la bactériolyse et de l'hématolyse par immunsérum.

On est amené presque nécessairement à se demander si l'hématolyse spécifique n'est pas un cas particulier de ce qu'on pourrait appeler la *cytolyse*. L'injection d'*hématies* données dans l'organisme d'un animal appartenant à une autre espèce que le fournisseur d'hématies rend le sérum de l'animal préparé hématolytique (on pourrait dire aussi hématotoxique) pour les hématies ayant servi à la préparation. L'injection de *cellules* autres que les hématies dans l'organisme d'un animal appartenant à une autre espèce que le fournisseur de cellules rendrait-elle le sérum de l'animal préparé cytolytique ou cytotoxique ?

Notons que, s'il s'agit d'hématies, les expressions *hématolyse, sérum hématolytique* ont prévalu, tandis que, s'il s'agit de cellules on a admis les expressions *sérum, pouvoir, propriété cytotoxiques*. La raison en doit être cherchée dans les caractères des phénomènes qui ont retenu l'attention des premiers observateurs : dans le cas des hématies, ce fut l'hématolyse, dans le cas des cellules ce furent les accidents provoqués, chez l'animal fournisseur des cellules ayant servi à la préparation du fournisseur de sérum, par l'injection de cet immunsérum, accidents qu'on rapportait à l'intoxication des cellules correspondantes.

Il suffira ici de noter quelques faits ; la question du pouvoir cytotoxique est encore très confuse, en raison de

difficultés considérables d'expérimentation et d'interprétation, qu'on n'a pas encore pu écarter totalement.

Voici des *sérums leucotoxiques* ou *leucolytiques*. On les prépare en injectant dans l'organisme d'un animal d'espèce A des purées de ganglions lymphatiques, ou des exsudats contenant des leucocytes, fournis par un animal d'espèce B. Le sérum de l'animal A, après qu'il a reçu quelques injections, espacées de quelques jours, possède la propriété d'agglutiner les leucocytes de l'espèce B et d'altérer leur protoplasma (la colorabilité et les apparences sont modifiées), tout en respectant le noyau. On démontre que cette leucolyse relève de l'action successive d'une substance thermostabile, résistant à 55° (sensibilisatrice) et d'une substance thermolabile détruite à 55° (alexine). L'histoire des sérums leucolytiques est calquée, mot pour mot, sur celle des sérums hématolytiques.

Voici le *sérum antiplaquettes*, qu'on pourrait appeler *globulintoxique* ou *globulinlytique*. Préparons du sang citraté d'animal A, en faisant arriver directement de l'artère 9 volumes de sang dans 1 volume d'une solution aqueuse de citrate de soude à 5 %. Centrifugeons modérément : les hématies et les leucocytes se déposent ; mais le plasma citraté conserve les globulins en suspension. Décantons-le et centrifugeons-le vigoureusement : les globulins se déposent ; on peut les débarrasser de tout reste de plasma citraté par lavages à l'eau salée et centrifugations alternantes. Injectons ces globulins de l'animal M dans l'organisme d'un animal d'espèce P et répétons plusieurs fois l'injection à quelques jours d'intervalle : le sérum de P devient sérum antiplaquette. Il agit en effet in vitro sur les plaquettes pour les agglutiner et les altérer (modifications d'apparence et de colorabilité). Ce même sérum antiplaquette, injecté dans les veines d'un animal P, agit sans doute de même sur les globulins : on constate que le sang de l'animal P, ayant reçu l'injection de sérum antiplaquette, fournit bien un caillot quand on le reçoit dans un vase ; mais ce caillot ne se rétracte pas. Or on a démontré que la rétraction du caillot est une manifestation de l'activité vitale des globulins : le sérum antiplaquette supprime donc une propriété physiologique des globulins.

Voici enfin le *sérum spermatotoxique*. Si, sous la peau, ou dans le péritoine d'un lapin, on injecte du sperme d'un animal d'une autre espèce (cobaye p. ex.) et si on renouvelle plusieurs fois à quelques jours d'intervalle cette injection, le sérum du lapin préparé est spermatotoxique : ajouté au sperme ayant servi à la préparation (sperme de cobaye p. ex.), il en immobilise et il en tue les spermatozoïdes, mais sans les altérer dans leurs apparences et dans leurs propriétés histologiques.

Dans le cas du sérum spermatotoxique quelques faits intéressants sont à noter. On peut engendrer, chez le cobaye, un *sérum autospermatotoxique*, en injectant à l'animal du sperme d'un autre cobaye, ou son propre sperme : on n'obtenait pas de sérum hématolytique en injectant à un lapin des hématies d'un autre lapin, ou un sérum leucotoxique en injectant à un lapin des leucocytes d'un autre lapin. Un cobaye possédant un sérum autospermatotoxique, capable d'immobiliser et de tuer in vitro des spermatozoïdes de cobaye, conserve ses propres spermatozoïdes parfaitement mobiles dans ses vésicules séminales, malgré que celles-ci soient irriguées par un sang spermatotoxique.

La possibilité d'engendrer un sérum autospermatotoxique conduit à considérer les spermatozoïdes comme des éléments étrangers pour l'organisme qui les produit ; nous savons qu'au contraire les hématies et les leucocytes ne sont pas équivalents à des corps étrangers pour les animaux appartenant à la même espèce que leur fournisseur.

On a tenté de préparer des *sérums cytotoxiques* par injections de *bouillies d'organes divers* provenant d'animaux d'espèces différentes de celle de l'animal subissant les injections, espérant, grâce à cet artifice, enrichir la technique physiologique d'un merveilleux instrument d'étude. S'il était possible, en injectant au lapin du tissu cérébral, thyroïdien, thymique, etc., provenant du cobaye, d'engendrer des sérums cérébrotoxique, thyroïdotoxique, thymotoxique, etc., pour les éléments anatomiques correspondants du cobaye, ne suffirait-il pas d'injecter un tel sérum dans l'organisme du cobaye, pour détruire totalement, ou altérer plus ou moins gravement, selon la dose injectée, les cellules correspondantes, et déterminer ainsi des troubles par suppression ou insuffisance fonctionnelles, dont le physiologiste pourrait tirer profit pour la découverte des propriétés biologiques de divers organes encore profondément mystérieux.

On a publié des résultats divers relatifs à des *sérums hépatotoxiques, néphrotoxiques, neurotoxiques*, etc. Il est prudent d'attendre, avant d'en parler, que de nouvelles recherches aient apporté quelque clarté et quelques précisions en la matière.

Il n'est d'ailleurs pas certain que l'espoir fondé sur ces méthodes par certains biologistes soit légitime. Nous reconnaîtrons ci-dessous que certaines sensibilisatrices microbiennes (et le fait est très fréquent) peuvent se fixer sur les microbes correspondants et leur permettre de consommer l'alexine sans qu'il en résulte pour ces microbes quelque modification morphologique ou quelque altération fonctionnelle. Qui nous prouve qu'il n'en est pas de même pour certaines cellules des organes, auquel cas le procédé serait illusoire. D'autre part, pour obtenir des sérums cytotoxiques, nous injectons des bouillies ou des macérations d'organes et non pas (comme ci-

dessus, quand il s'agissait d'hématies, de leucocytes, de plaquettes, et de sperme) une seule espèce de cellules. Le sérum cytotoxique engendré sera donc polyvalent, c'est-à-dire capable d'agir sur les divers éléments du tissu considéré, et sans doute sur les éléments correspondants d'autres tissus, renfermant les mêmes cellules, ou dont les cellules contiendront les mêmes éléments chimiques. L'interprétation des accidents consécutifs à l'injection intra-organique d'un sérum cytotoxique est actuellement impossible. La question des *cytotoxines* n'est pas arrivée à maturité.

En étudiant les sérums bactériolytiques ou hématolytiques, nous avons reconnu l'existence d'une infinité de sensibilisatrices spécifiques ; il n'existe par contre qu'*une seule alexine,* présidant indistinctement à la bactériolyse et à l'hématolyse.

Supposons que dans un sérum quelconque (normal-sérum ou immunsérum, peu importe) nous introduisions des vibrions cholériques sensibilisés (par immersion dans l'immunsérum bactériolytique correspondant, désactivé à 55°), la transformation granuleuse se produit. L'alexine bactériolytique a eté consommée, car si, éliminant les granules vibrioniens par centrifugation, on introduit de nouveaux vibrions sensibilisés, ils ne subissent pas la transformation granuleuse. Mais, en même temps qu'a disparu l'alexine bactériolytique, l'alexine hématolytique a également disparu, car la liqueur a perdu tout autant la propriété d'hématolyser des hématies sensibilisées que de bactériolyser des vibrions sensibilisés. — Inversement, supposons que dans un sérum quelconque nous introduisions des hématies sensibilisées, l'hématolyse se produit. Si alors, dans ce milieu où l'alexine hématolytique a été consommée, on introduit soit des hématies sensibilisées nouvelles, soit des vibrions sensibilisés, on ne constate ni nouvelle hématolyse, ni bactériolyse ; donc l'alexine bactériolytique a disparu en même temps que l'alexine hématolytique. Ne convient-il pas dès lors de conclure que ces deux alexines n'en font qu'une.

Les alexines provenant d'animaux d'espèces différentes sont-elles

identiques? A priori, on en peut douter, car nous savons que les diverses protéines contenues dans l'organisme d'animaux d'espèces différentes, tout en présentant d'incontestables similitudes chimiques, physiques et physiologiques, peuvent pourtant être distinguées, grâce à de minimes différences de détail. Tous les pigments sanguins des vertébrés ont de frappantes ressemblances : tous sont dérivés pyrroliques, tous, en se décomposant, fournissent une même hématine, tous sont ferrugineux, tous ont le même spectre d'absorption, tous forment avec l'oxygène une combinaison dissociable obéissant strictement aux mêmes lois ; — pourtant les diverses hémoglobines diffèrent selon leur origine : les proportions de soufre et de fer ne sont pas les mêmes dans leurs molécules, les solubilités diffèrent, les formes cristallines sont diverses. Il n'y a pas une hémoglobine pour tous les vertébrés, il y a une famille (nous allions dire une famille très unie) d'hémoglobines.

De même, nous considèrerons une *famille d'alexines*, comprenant un membre dans chaque espèce zoologique. Nous justifierons d'ailleurs cette conception en notant que toutes les alexines ne se comportent pas de semblable façon vis-à-vis de la chaleur. L'alexine du lapin est atténuée par chauffage à 52° pendant 1 h. ; elle est détruite par chauffage à 55° pendant 1/2 h. L'alexine du chien résiste absolument au chauffage à 52° pendant 1 h. ; elle n'est qu'atténuée par chauffage à 55° pendant 1/2 h. ; elle ne se détruit rapidement qu'à 56° et au-dessus. L'alexine des vertébrés à sang froid est déjà détruite à 45°.

Cette diversité des alexines selon l'origine zoologique ressort encore de cette observation que, si tous les sérums sont capables d'assurer la bactériolyse des vibrions sensibilisés ou des hématies sensibilisées, ils ne le font pas avec la même puissance dans tous les cas. — Quand il s'agit d'hématolyse p. ex., une alexine provenant de l'animal fournisseur des hématies employées ne donne généralement que de médiocres résultats (sérum de cobaye ajouté à des hématies de cobaye sensibilisées), tandis qu'on en obtient d'excellents si l'alexine provient d'un animal de même espèce que celui qui a fourni le sérum sensibilisateur (immunsérum hématolytique désactivé de cobaye agissant sur hématies de lapin, et alexine de cobaye ou sérum frais de cobaye neuf).

On a reconnu encore qu'il n'y a pas avantage, tout au contraire, à utiliser un immunsérum désactivé et un sérum alexique provenant d'animaux profondément dissemblables.

Notons enfin que les sérums de tous les animaux ne sont pas également riches en alexine : les sérums de lapin et de cobaye en sont abondamment pourvus ; le sérum de cheval n'en renferme que très peu.

Un certain nombre de microbes, nous l'avons déjà noté, (p. 256) *ne subissent pas de bactériolyse* quand on les traite par l'immunsérum correspondant, ou bien successivement par cet immunsérum correspondant désactivé à 55° et par un sérum frais alexique : tels sont le streptocoque, le staphylocoque, le pneumocoque, le bacille diphtérique, etc. Les bacilles typhique et paratyphiques ne subissent, sous l'influence de l'immunsérum correspondant, que de très minimes altérations reconnaissables à un examen très minutieux ; encore faut-il que des conditions un peu exceptionnelles soient réalisées : pratiquement ils ne sont pas bactériolysés par l'immunsérum correspondant dans les conditions généralement adoptées pour faire l'essai.

Pourtant *tous ces microbes sont modifiés dans les immunsérums.* Voici des faits. Introduisons des bacilles typhiques dans du sérum de cobaye neuf, ils n'en consomment pas d'alexine : si, en effet, après les y avoir laissés séjourner quelques (3 ou 4) heures à température convenable (37 à 40°), on les en élimine par centrifugation, le liquide est capable d'hématolyser des hématies sensibilisées ou de bactériolyser des vibrions sensibilisés, ce qui prouve qu'il renferme de l'alexine. Introduisons ces mêmes bacilles dans le sérum d'un cobaye immunisé contre eux, et laissons-les y séjourner dans les mêmes conditions de durée et de température que les précédents dans le sérum normal ; centrifugeons alors pour les éliminer, et, dans la liqueur, introduisons des hématies sensibilisées, ou des vibrions sensibilisés : il ne se produit ni hématolyse, ni bactériolyse : l'alexine est donc absente : elle a été consommée par les bacilles typhiques.

Chauffons à 55° le sérum de cobaye immunisé contre le bacille typhique ; ajoutons-y une certaine quantité de ces bacilles typhiques ; puis introduisons-y, après quelques heures, du sérum frais de cobaye neuf (sérum aléxique). Les bacilles ainsi traités absorbent l'alexine (on le vérifie en ajoutant ultérieurement des hématies sensibilisées, qui ne sont pas hématolysées dans cette liqueur). — Chauffons à 55° du sérum de cobaye neuf ; introduisons-y une cer-

taine quantité de bacilles typhiques, puis, après quelques heures, ajoutons-y du sérum alexique de cobaye. Les bacilles ainsi traités n'absorbent pas l'alexine (on le vérifie en ajoutant ultérieurement des hématies sensibilisées, qui sont hémafolysées dans cette liqueur).

Il y a donc dans le sérum des cobayes immunisés contre le bacille typhique quelque élément qui agit sur ce bacille pour lui conférer le pouvoir d'absorber l'alexine du sérum.

Voilà des faits que nous pouvons vérifier pour maints autres microbes, de ceux que nous avons notés comme ne subissant pas la bactériolyse proprement dite, et vérifier dans tous leurs détails.

La réaction est *absolument spécifique,* c'est-à-dire que seul l'immunsérum fourni par un animal immunisé contre un microbe est capable de conférer à ce microbe la propriété de consommer l'alexine.

Quand nous nous occupions de bactériolyse du vibrion cholérique, nous avons reconnu qu'une sensibilisatrice spécifique, thermostabile, contenue dans l'immunsérum correspondant se fixait sur le vibrion cholérique pour le sensibiliser à l'action de l'alexine, grâce à quoi celle-ci était consommée par le vibrion sensibilisé, en même temps que se produisait la bactériolyse proprement dite. Avec les bacilles typhiques, nous retrouvons cette sensibilisatrice spécifique thermostabile, nous reconnaissons la consommation d'alexine, mais la bactériolyse ne se produit pas. En vérité, cette bactériolyse mise à part, les deux catégories de faits sont l'image exacte l'une de l'autre ; et nous sommes autorisés à énoncer la loi générale suivante :

Quand un microbe est mis en contact avec l'immunsérum correspondant (sérum d'un animal préparé par injections, plusieurs fois répétées à quelques jours d'intervalle, de ce microbe), il fixe une immunisine spécifique contenue dans cet immunsérum, sensibilisatrice spécifique, grâce à quoi, il peut consommer l'alexine sérique.

Cette même loi s'applique aux hématies, et sans doute à toutes cellules. Mais il convient de distinguer deux cas : parfois la consommation d'alexine entraîne des modifi-

cations de l'élément considéré, bactériolyse des vibrions, hématolyse des globules rouges ; parfois la consommation d'alexine n'a pas de semblables conséquences : les microbes paraissent inaltérés. Nous répéterons encore : la bactériolyse, l'hématolyse sont des accidents ; elles ne représentent pas le fait essentiel, elles n'en sont que la conséquence accidentelle.

Une question s'impose à notre attention. Les divers phénomènes que nous avons produits avec des immunsérums ne sont-ils pas, eux aussi, la reproduction exacte de ceux que nous venons d'étudier ? La *précipitation engendrée par les sérums précipitants* n'est-elle pas aussi un accident consécutif à la sensibilisation de la protéine et à la consommation d'alexine ? Dans *la neutralisation des toxines par les antitoxines*, n'y a-t-il pas quelques faits qui permettent de la ranger dans la même catégorie ?

Il ne semble pas que les mélanges de toxine et de sérum antitoxique correspondant aient la propriété de consommer l'alexine, car des hématies sensibilisées qu'on y introduit s'hématolysent (à condition que le sérum antitoxique soit frais) comme elles le feraient dans un sérum frais quelconque. Réservons pourtant la conclusion : nous ne connaissons pas les poids de toxine et d'antitoxine en jeu, et par conséquent le poids du complexe toxine-antitoxine ; peut-être est-il infiniment petit, et la quantité d'alexine qu'il peut consommer est-elle elle-même infiniment petite, trop petite en tout cas pour que nous puissions reconnaître qu'il y a eu consommation d'alexine. La question reste posée dans ce cas particulier.

Elle peut, au contraire, être résolue dans le cas des précipités spécifiques. Supposons que nous disposons d'un sérum précipitant (la caséine, ou l'ovalbumine, ou les protéines du sérum p. ex.). Chauffons-le à 55° pour détruire son alexine ; la précipitine résiste parfaitement bien à cette température ; si donc on ajoute à ce sérum ainsi traité la protéine ou liqueur protéique correspondante, le précipité spécifique se produit. Centrifugeons pour tasser ce précipité, décantons la liqueur, et à plusieurs reprises lavons à l'eau salée le précipité et centrifugeons, pour enlever la totalité de la liqueur primitive. Mettons le précipité en suspension dans un sérum frais normal (alexique) et laissons-le pendant quelques heures à 37°. Puis ajoutons au mélange soit des hématies sensibilisées, soit des vibrions sensibilisés : il ne se produit ni hématolyse, ni bactériolyse : l'alexine avait donc disparu, consommée par le précipité spécifique.

Les précipités spécifiques sont même de puissants consommateurs

d'alexine, si bien qu'on peut constater cette consommation d'alexine dans des mélanges de liqueurs protéiques et de sérum précipitant correspondant même dans le cas où le complexe résultant de l'union de la substance précipitable et de la précipitine ne trouble pas la liqueur, comme il arrive quand les dilutions des liqueurs sont considérables.

De ces résultats on peut tirer des applications pratiques. P. ex., *on peut caractériser un microbe par la réaction de consommation* (on dit aussi, improprement, de fixation) *de l'alexine* ; p. ex., *on peut établir qu'un organisme a subi récemment, ou subit présentement telle infection microbienne,* etc. Nous allons préciser.

En présence d'une culture microbienne qui n'a pas été rigoureusement déterminée, et qu'on pourrait rapporter à plusieurs espèces, on peut songer à la caractériser par la consommation d'alexine. Supposons que nous disposons d'une série d'immunsérums, correspondant chacun à l'une des espèces microbiennes entre lesquelles nous hésitons. A une certaine quantité de chacun d'entre eux préalablement chauffé à 55°, nous ajoutons un peu de la mystérieuse culture, puis un peu de sérum frais alexique. L'alexine sera consommée dans le seul mélange où le microbe sera en présence de l'immunsérum correspondant. On reconnaîtra aisément ce mélange, en ajoutant à tous les mélanges des hématies sensibilisées : partout où l'alexine sera présente, l'hématolyse se produira ; là seulement où elle avait été consommée par le microbe sensibilisé, l'hématolyse ne se produit pas.

En réalité, cette méthode ne s'emploie guère, parce que l'immunsérum spécifique est à la fois sensibilisateur et agglutinant, et que l'agglutination qui se produit rapidement indique d'emblée l'immunsérum qui correspond au microbe étudié sans qu'il soit besoin de faire quelque manipulation complémentaire.

Il était à supposer que les sensibilisatrices spécifiques apparaissent dans le sang des sujets (hommes et animaux) subissant une maladie non expérimentale et qu'en précisant la nature de cette sensibilisatrice, on déterminerait la nature exacte de la maladie, (ce qui parfois, dans les cas cliniquement difficiles ou douteux, ne manque pas d'importance), ou la nature du microbe infestant et son identité avec tel ou tel microbe dont on possède une culture pure.

Lorsqu'on eut découvert le microbe de la coqueluche et qu'on se proposa d'établir que le microbe nouvellement isolé et cultivé était bien l'agent spécifique de cette maladie, on eut recours, entre autres

moyens, à la réaction de consommation d'alexine par le microbe sensibilisé par sérum de coquelucheux. Si on traite le microbe par le sérum d'enfant ayant la coqueluche depuis 3 ou 4 semaines, ou ayant eu la coqueluche, on constate que le microbe est ainsi sensibilisé et consomme l'alexine. Il représente donc bien le microbe de la coqueluche.

Cette même réaction de consommation de l'alexine, pratiquée en utilisant le sérum d'un malade, pris à une époque convenable de l'évolution morbide (variable suivant la maladie considérée, et que l'observation aura précisée) et la culture microbienne correspondant à la maladie diagnostiquée, cette réaction a servi à confirmer des diagnostics ou à les infirmer. On procède ainsi, par exemple, pour les infections typhique, morveuse, streptococcique, gonococcique, etc.

Nous n'avons pas à entrer dans les questions techniques de réalisation pratique, on les trouvera développées dans les ouvrages spéciaux. Il nous suffira d'avoir indiqué le principe de cette méthode de séro-diagnostic.

Le cas du *séro-diagnostic de la syphilis* mérite de retenir l'attention.

On pouvait se demander si une macération de foie hérédo-syphilitique (dans lequel se trouvent vraisemblablement les microbes générateurs de syphilis) ne serait pas sensibilisée par le sérum de sujets syphilitiques, et, ainsi sensibilisée, ne serait pas apte à consommer l'alexine d'un sérum frais, ce qu'on reconnaîtrait aisément à l'aide d'hématies sensibilisées, selon le procédé courant.

Ces prévisions se vérifient, soit dans le cas de la syphilis expérimentale des singes, soit dans le cas de la syphilis humaine.

On ajoutera p. ex. à la macération de foie hérédo-syphilitique dans l'eau salée du sérum sanguin de sujet syphilitique (sérum chauffé 1 h. à 55°), puis du sérum frais de cobaye (sérum alexique) ; plus tard, on ajoutera des globules rouges de mouton sensibilisés par l'immunsérum correspondant (chauffé à 55°) fourni par le lapin préparé à l'aide d'hématies de mouton. L'hématolyse ne se produira pas, l'alexine du sérum frais de cobaye ayant été consommée par la macération sensibilisée de foie syphilitique. Si, au contraire, le sérum humain utilisé est fourni par un sujet non syphilitique, la macération hépatique syphilitique non sensibilisée ne consommera pas l'alexine, et celle-ci demeurera dans la liqueur, apte à assurer l'hématolyse des globules rouges sensibilisés de mouton, tardivement ajoutés.

C'est là la répétition des essais dont nous parlions tout à l'heure, à propos de séro-diagnostic des infections typhiques et autres, à cette différence près que, pour les infections typhiques, on usait de la culture du bacille typhique, alors que, pour l'infection syphilitique, on use d'une macération de foie syphilitique.

Pourtant, la ressemblance est plus apparente que réelle. En effet, si on renouvelle l'essai de séro-diagnostic de la syphilis en se servant d'une macération de foie normal, aux lieu et place de la macération de foie syphilitique, que nous employons tout à l'heure, on obtient exactement les mêmes résultats, à savoir hématolyse si le sérum humain employé a été fourni par un non-syphilitique, absence d'hématolyse si le sérum humain employé a été fourni par un syphilitique. Or ici le spirochète, agent de la syphilis, dont on admettait la présence dans le foie syphilitique, ne saurait jouer aucun rôle, puisqu'on utilise un foie qui ne le contient pas, étant fourni par un sujet non-syphilitique.

Pratiquement, cette méthode au foie normal s'est révélée fort applicable et de même valeur que la première méthode. Mais alors que cette première méthode n'était qu'un cas particulier d'une méthode générale, dont la signification scientifique était connue, reposant sur des études nombreuses et concordantes, la seconde méthode n'a plus qu'une valeur empirique, et c'est assurément un étonnant spectacle que celui auquel il nous a été donné d'assister : abandonner le domaine scientifique, pour rentrer dans l'empirisme.

Puis on a reconnu que divers extraits d'organes, prélevés chez l'homme ou chez les animaux (bœuf p. ex.), des extraits de cœur entre autres, peuvent être substitués à l'extrait de foie ; quelques techniciens ont même usé de produits végétaux, p. ex. de produits dérivés de la farine de pois.

Dans ces divers extraits, on a cherché à déterminer la substance chimique active, c'est-à-dire celle qui se laisse sensibiliser par le sérum syphilitique, et qui est, par là, rendue capable de consommer l'alexine : on a reconnu que de telles substances sont nombreuses.

Chaque technicien a aujourd'hui sa formule, et ses modes de préparation. Tel d'entre eux fera un extrait éthéré d'un tissu desséché, puis le précipitera par l'acétone ; tel autre traitera le tissu desséché par l'acétone, puis en retirera la substance active par l'alcool, etc. N'insistons pas. Nous ne prétendons pas nier la valeur pratique de la réaction de séro-diagnostic de la syphilis sous les diverses formes qu'on lui a données, mais on voudra bien reconnaître que cet étrange et parfois incohérent empirisme rappelle quelque peu celui des sorciers d'autrefois. Vraiment, nous ne sommes plus chez nous ; hâtons-nous d'y rentrer.

CHAPITRE XIII

L'IMMUNITÉ ANTIMICROBIENNE NATURELLE

SOMMAIRE. — Exemples d'immunités antimicrobiennes et de différences de réceptivité selon les espèces et les races ; données exclusivement empiriques. — Immunités relative et conditionnelle. — Immunité et résistance. — De l'invasion des microbes : protection tégumentaire et périphérique. — Les humeurs des animaux réfractaires sont-elles bactéricides ? — Chien et charbon, etc. ; les humeurs bactéricides, le sérum de rat et la bactéridie. — Il y a immunité sans pouvoir bactéricide des humeurs et inversement. — Les humeurs des animaux réfractaires peuvent-elles assurer la nutrition des microbes correspondants ? — Oui, répondent des expériences faites avec divers microbes. — Les humeurs des animaux réfractaires sont-elles antitoxiques ? — Les microbes injectés dans les vaisseaux d'un animal réfractaire disparaissent rapidement. — Ils ne sont éliminés ni par les urines ni par quelque sécrétion.

Etude de la sérosité péritonéale normale. — Des conséquences de l'injection intrapéritonéale de bouillon chez le cobaye : leucolyse primitive et afflux de leucocytes. — Microphages et macrophages. — Injection intrapéritonéale d'hématies étrangères et résorption de ces hématies. — Absorption des hématies par les macrophages et destruction intraprotoplasmique des hématies englobées. — Résorption des spermatozoïdes injectés dans le péritoine. — Résorption des hématies injectées sous la peau. — Phagocytes et phagocytose. — Résorption des microbes injectés dans la cavité péritonéale : streptocoque, vibrion cholérique, spirilles. — Résorption dans le tissu cellulaire sous-cutané. — Phagocytose des spores des trypanosomes, des microphages. — La part des macrophages et celle des microphages. — Le sérum sanguin favorise la phagocytose. — Opsonine. — Le chimiotaxisme des leucocytes et sa mise en évidence expérimentale. — La phagocytose est le pivot de l'immunité antimicrobienne naturelle. — Intoxications microbiennes et infections microbiennes. — Les phagocytes englobent des microbes vivants et inaltérés. — Les microbes meurent, s'altèrent, se désagrègent, quand ils ont été englobés par les phagocytes. — Dans l'immunité antimicrobienne naturelle, la pha-

gocytose est tout. — Données expérimentales. — Là où il y a immunité, la phagocytose se produit totale; là où il y a infection, la phagocytose fait défaut, ou est insuffisante ; streptocoque et cobaye; bactéridie, lapin et cobaye ; bacille du tétanos atoxique et gélose ; spores et poussières. — Les immunités relatives et l'abondance des microbes injectés. — L'immunité de la poule vis-à-vis du charbon : influence du refroidissement. — L'immunité anticharbonneuse du chien et la sensibilité charbonneuse du chien enragé. — Un mot sur le pouvoir bactéricide des humeurs.

DIVERSES maladies de l'homme et des animaux dérivent du *parasitisme microbien* (charbon, choléra, peste, fièvre typhoïde, etc.). On le démontre en établissant qu'un microbe d'espèce donnée, caractérisé par sa forme, ses dimensions, ses colorabilités, ses propriétés biologiques, etc., peut toujours être décelé dans l'organisme du sujet présentant les symptômes cliniques de la maladie correspondante, et que ce microbe, introduit dans des conditions convenables dans l'organisme d'un sujet sain fait apparaître chez lui les symptômes de la maladie, dont il était le témoin.

Tantôt une maladie microbienne ne s'observe que chez les animaux d'une seule espèce, tantôt elle peut s'observer, soit avec la même symptomatologie, soit avec des symptomatologies plus ou moins différentes et nuancées, chez des animaux de plusieurs espèces. Tantôt un microbe pathogène, inoculé à des animaux de diverses espèces, n'engendre de maladie que chez ceux qui appartiennent à l'espèce sur laquelle on a prélevé le microbe ; tantôt il est pathogène pour quelques-unes des espèces, ou pour la plupart des espèces, ou pour toutes les espèces soumises à l'essai.

L'infection par le gonocoque p. ex. ne s'observe que chez l'homme, comme aussi l'influenza; le tétanos, le charbon, la peste peuvent s'observer chez l'homme et chez divers animaux : on a noté le tétanos chez le cheval, le charbon chez le bœuf, la peste chez le rat.

D'ailleurs, le charbon du bœuf et celui du mouton ont de frappantes analogies symptomatiques; la peste de l'homme et celle du rat, au contraire, affectent, au moins en général, des formes distinctes, la peste de l'homme est d'ordinaire bubonique, celle du rat est d'ordinaire pneumonique.

Les microbes de plusieurs maladies de l'homme, syphilis, polyo-

myélite, typhus exanthématique, n'engendrent pas de maladies équivalentes quand on les inocule aux animaux d'expérience (sauf au singe). Par contre, le microbe du choléra des poules est pathogène pour la poule, le lapin, la souris ; le microbe du rouget du porc, pour le porc, le lapin, le cobaye, la souris ; la bactéridie charbonneuse pour le mouton, le bœuf, le lapin, le cobaye, la souris, etc.

En général, la gravité de la maladie microbienne expérimentale varie suivant l'*espèce*, parfois suivant la *race* de l'animal en expérience.

La poule et le lapin présentent une maladie générale presque toujours mortelle quand on leur injecte sous la peau une culture du microbe du choléra des poules ; le cobaye, dans les mêmes conditions expérimentales, ne présente généralement qu'une suppuration locale, se terminant par la guérison. La maladie pneumococcique de la souris affecte généralement la forme d'une septicémie mortelle ; celle de l'homme affecte généralement la forme d'une pneumonie localisée, pouvant se terminer par la guérison. La morve expérimentale comme la morve spontanée du cheval évolue selon le mode chronique ; la morve expérimentale comme la morve spontanée de l'âne évolue selon le mode aigu. Les moutons des races françaises sont très sensibles au charbon bactéridien ; les moutons des races algériennes sont très résistants à l'action de la bactéridie. La fièvre jaune et la malaria sont beaucoup plus graves pour les blancs que pour les nègres.

Il y a donc, selon les espèces, des différences de sensibilité à l'action pathogène des microbes, des différences de *réceptivité*, dit-on encore. Mais il n'y a pas des espèces douées en général d'une grande réceptivité et des espèces douées d'une réceptivité faible, ou d'une réceptivité moindre. Une espèce animale peut avoir une très grande réceptivité pour un microbe pathogène et une très faible pour un autre, tandis qu'une autre espèce peut avoir une très faible réceptivité pour le premier, et une très forte pour le second.

Nous signalions tout à l'heure la forte réceptivité de la poule et du lapin pour le microbe du choléra des poules ; le cobaye a une réceptivité beaucoup plus faible pour ce même microbe. Par contre, la réceptivité du cobaye pour la bactéridie est beaucoup plus grande que celle de la poule ou du lapin. Le rat, qui prend si facilement la

peste, le chien, qui prend si facilement la rage, résistent remarquablement bien à la bactéridie. Et on pourrait multiplier les exemples à l'infini.

Bref, dans les questions de réceptivité des espèces animales, aucune règle ne saurait être tirée de l'examen des innombrables documents longuement et minutieusement amassés : c'est, en vérité, l'anarchie la plus complète, le chaos le plus indescriptible.

Certaines maladies microbiennes ne se présentent que chez les animaux d'une espèce ou de quelques espèces, les animaux des autres espèces étant insensibles à l'inoculation du microbe correspondant : les gonococcies sont propres à l'homme ; par contre l'homme n'est pas sensible aux microbes de la peste bovine, du choléra des poules, de la pneumo-entérite du porc, etc.

On dit que les animaux ou l'homme insensibles à l'action d'un microbe, pathogène pour les animaux d'une autre espèce, sont *réfractaires,* ou encore qu'ils possèdent une *immunité* vis-à-vis de ce microbe, *immunité naturelle,* dit-on, pour l'opposer à l'*immunité acquise,* telle qu'on peut l'engendrer par une préparation convenable, ou tout au moins pour l'en distinguer.

L'immunité naturelle n'est pas toujours, ni même le plus souvent *absolue,* c'est-à-dire valable quels que soient la quantité de microbes inoculée, le point d'inoculation, l'âge de l'animal, son état de santé, etc. Souvent elle n'est que *relative* ou *conditionnelle.*

L'immunité naturelle peut-être relative, c'est-à-dire n'être valable que pour une quantité modérée de microbes inoculés, mais non pour une quantité surabondante : le mouton algérien résiste à l'inoculation des bactéridies, si la quantité inoculée est modérée ; mais, en forçant la quantité des bactéries inoculées, on peut faire apparaître chez lui un charbon mortel ; la dose minima nécessaire pour tuer le mouton algérien est toujours notablement plus grande que la dose minima nécessaire pour tuer le mouton français ; voilà pourquoi on parle de l'immunité relative du mouton algérien vis-à-vis de la bactéridie.

L'immunité naturelle peut être conditionnelle, c'est-à-dire n'être valable que dans certaines conditions, mais non pas dans toutes conditions : la poule est résistante à l'action de la bactéridie ; mais elle

prend le charbon si on l'a refroidie de quelques degrés avant l'inoculation, et si on la maintient refroidie pendant les premières heures qui suivent l'inoculation.

D'ailleurs, il est généralement possible de modifier le microbe pathogène en le soumettant à des actions judicieusement choisies et d'obtenir ainsi, non pas des espèces nouvelles (car les caractères morphologiques et biologiques demeurent, car la maladie engendrée a toujours la symptomatologie normale), mais des variétés dont quelques-unes sont capables d'engendrer la maladie typique chez des sujets appartenant à des espèces réfractaires à l'action pathogène du microbe normal.

On peut légitimement distinguer l'*immunité absolue* (celle qu'on ne peut vaincre. ou tout au moins qu'on n'a pas pu vaincre jusqu'ici) et l'*immunité relative.*

A l'immunité absolue, on pourrait conserver la dénomination d'immunité ; à l'immunité relative, on pourrait appliquer la dénomination de *résistance,* et considérer des résistances plus ou moins grandes, selon qu'elles seraient plus ou moins difficiles à vaincre. Les animaux présentant l'immunité *absolue* seraients dits *réfractaires* ; les animaux présentant l'immunité relative seraient dits *résistants.* En pratique, on n'a pas coutume de faire ces distinctions (nous le regrettons, car l'exactitude et la précision du langage sont indispensables en science, autant, sinon plus, qu'en littérature) ; on parle d'immunité et d'animaux réfractaires, même quand l'immunité n'est pas absolue.

Quelle est la cause de ces différences de sensibilité à l'égard d'un même microbe pathogène, présentées par des animaux d'espèces différentes ; quelle est la cause de ces différences de sensibilité à l'égard de divers microbes pathogènes, présentées par divers individus d'une même espèce animale ?

Les microbes ne développent leurs effets pathogènes que s'ils ont envahi l'organisme, c'est-à-dire forcé la barrière que leur oppose la surface de l'organisme (exception faite pour quelques microbes générateurs de toxine, tels que le bacille diphtérique, qui se développent à la surface des muqueuses, sans s'introduire dans l'intimité de l'économie, mais dont les toxines envahissent l'organisme par diffusion). La surface cutanée est représentée par un épiderme, imperméable aux

microbes, tant qu'il est intact; les muqueuses sont d'ordinaire revêtues d'un liquide visqueux emprisonnant les microbes et les tenant à distance des cellules épithéliales, en raison de la sécrétion continue des mucosités. Il y a là des moyens de défense de l'organisme, très intéressants sans doute, mais dont nous n'avons pas à nous occuper, parce qu'ils jouent évidemment contre tous les microbes et même plus généralement contre toutes les particules solides apportées par le milieu ambiant, et non pas seulement contre tel ou tel microbe, chez tel ou tel animal.

Nous supposons que le microbe pathogène, trompant la vigilance des défenses périphériques, a pénétré dans l'organisme (dans le sang, sous la peau, dans une cavité séreuse, dans les muscles). Dans ces conditions, qui sont généralement expérimentales, certains microbes, chez les animaux appartenant à une certaine espèce, se multiplient et se propagent, engendrant une maladie grave et mortelle, tandis que ces mêmes microbes, chez les animaux d'une autre espèce, ne se multiplient, ni ne se propagent (et dès lors ne provoquent aucun trouble organique, cliniquement appréciable), ou ne se multiplient et ne se propagent que modérément (et dès lors ne provoquent qu'une affection légère et guérissable). Pourquoi ?

La première idée qui se présente à l'esprit est que les microbes injectés dans l'organisme, sont, dans le cas d'immunité, tués par les humeurs dans lesquelles ils baignent. Que vaut cette hypothèse ? *Les humeurs, et en particulier le sang, le plasma ou le sérum des animaux réfractaires à une infection sont-ils toxiques pour le microbe correspondant ?*

Le chien est réfractaire au charbon (au moins s'il est adulte, si la quantité de culture inoculée n'est pas colossale, et si l'on n'emploie pas quelque variété de bactéridie particulièrement dangereuse). Or, si on ajoute à une culture de bactéridie du sang défibriné, du sérum, de la lymphe ou des transsudats de chien, on constate qu'aucun de ces liquides ne tue la bactéridie, ou même ne diminue sa vitalité et son aptitude à se multiplier.

Le cobaye, le chien, le rat sont peu sensibles au streptocoque ; l'âne, le cheval, le mouton sont à peu près réfractaires (au moins vis-à-vis de certaines races de streptocoques). Or le sérum et les sérosités fournis par l'un ou par l'autre de ces animaux ne sont pas toxiques pour les streptocoques.

Ces faits, auxquels on pourrait en ajouter beaucoup d'autres semblables, établissent donc que l'*immunité naturelle contre les microbes pathogènes n'est pas,* au moins dans tous les cas (et nous faisons cette réserve parce qu'en ces questions les généralisations trop absolues sont extrêmement imprudentes), *la conséquence d'une action toxique exercée par les humeurs de l'animal réfractaire sur le microbe considéré.*

A la vérité, on a signalé quelques faits qui semblent, au moins à un examen superficiel, démontrer que certaines immunités pourraient êtres liées à la toxicité des humeurs de l'organisme réfractaire pour le microbe correspondant.

Les *rats* sont réfractaires à la *bactéridie* (au moins si la quantité de bactéridies inoculées n'est pas très considérable). Or si on ajoute du sérum de rat à une culture de bactéridies, on reconnaît qu'elles cessent d'allonger leurs filaments et de se multiplier, qu'elles perdent leur forte réfringence normale et qu'elles ne se colorent plus que faiblement sous l'influence des réactifs qui les coloraient vivement autrefois. N'est-il pas naturel d'en conclure que l'immunité du rat vis-à-vis de la bactéridie est due à la toxicité de ses humeurs pour ce microbe ?

Et pourtant cette conclusion serait erronée : on peut en effet établir, par des expériences, dans le détail et la technique desquelles il ne convient pas d'entrer ici, que, si le sérum du rat est toxique pour la bactéridie, le plasma du rat n'est pas toxique pour elle. Or dans l'organisme, il y a du plasma et non du sérum ; donc l'immunité anticharbonneuse du rat ne dépend pas de la toxicité de ses humeurs.

S'il n'était toujours imprudent en biologie de trop vite généraliser, nous dirions volontiers que l'immunité naturelle ne relève pas de la toxicité des humeurs de l'animal réfractaire pour le microbe considéré. Peut-être vaudra-t-il mieux se contenter de dire que les quelques faits, qu'on a présentés pour appuyer l'hypothèse d'une immunité naturelle d'origine humorale, n'ont pas la signification qu'on leur avait attribuée. Nous nous garderons bien de nier la possibilité d'une immunité naturelle d'origine humorale ; nous dirons simplement que jusqu'ici aucune preuve valable n'en a été fournie.

Mais il se pourrait que *les humeurs des animaux réfractaires,* tout en n'étant pas microbicides, *fussent impropres*

à assurer la multiplication et la vie des microbes inoculés, et que ceux-ci disparussent par suite de quelque insuffisance alimentaire de ces humeurs.

C'est là toutefois une hypothèse bien fragile ; ne sait-on pas que la grande majorité des microbes pathogènes ne sont pas très exigeants quant à la composition chimique du milieu sur lequel on les cultive.

Les streptocoques se développent fort bien dans le bouillon ordinaire des bactériologistes, dans le lait, dans le sérum, sur la pomme de terre, etc. Les streptocoques sont très pathogènes pour la souris, peu pour le rat et presque pas pour le cheval. Faut-il admettre qu'il existe entre les humeurs de ces trois animaux des différences de composition suffisantes pour favoriser ou gêner (jusqu'à l'empêcher) le développement des streptocoques, si accommodants par ailleurs quand on les cultive in vitro. C'est au moins bien invraisemblable.

La bactéridie pousse admirablement sur tous les milieux de culture courants, bouillon, bouillon peptoné, gélatiné ou gélosé, sérum, lait, pomme de terre, urine légèrement alcalanisée et même sur des liqueurs purement minérales comme celles dont on use dans les études de fermentations. Est-il vraisemblable que la sensibilité extrême du mouton et du bœuf à la bactéridie, et l'immunité de la poule et du chien à ce même microbe résultent de quelque différence de composition des humeurs, les unes étant éminemment favorables à la multiplication des microbes, les autres ne le permettant pas ?

L'hypothèse que nous examinons actuellement ne résiste pas à l'analyse expérimentale : on peut démontrer en effet que *les sérums d'animaux réfractaires constituent d'aussi bons milieux de culture que les autres sérums,* voire même parfois d'excellents milieux de culture.

Le streptocoque se développe parfaitement bien dans le sérum de cheval, malgré que le cheval soit assez réfractaire à l'infection streptococcique ; la bactéridie se développe admirablement dans le sérum de chien, malgré que le chien résiste généralement à l'inoculation charbonneuse.

Le microbe de l'influenza est fort exigeant quant à ses milieux de culture : il ne se développe pas sur les milieux d'usage courant en microbiologie ; il ne se développe bien que sur un milieu qu'on lui prépare en étalant un peu de sang frais à la surface d'un tube de gélose, le sang le plus favorable étant le sang de pigeon. N'en devrait-

on pas conclure (si quelque rapport existait entre l'immunité et la composition des humeurs) que le pigeon devrait être le plus sensible des animaux à l'infection influenzaïque ? Or le pigeon, comme tous les autres animaux (la maladie est exclusivement humaine), est réfractaire totalement à l'influenza.

Le microbe de la péripneumonie des bovidés est également difficile à cultiver : on n'y réussit guère que dans le sérum de lapin. N'en devrait-on pas conclure que le lapin devrait être le plus sensible à l'infection correspondante de tous les animaux, en tout cas plus sensible que le bœuf, sur le sérum duquel il ne se développe pas in vitro. Or le lapin est totalement réfractaire, et le bœuf est très sensible.

Et puis nous notions ci-dessus que souvent l'immunité naturelle antimicrobienne n'est que relative, et que l'infection se produit quand on inocule de très grandes quantités de microbes. Comment expliquerait-on que beaucoup de microbes trouvent à se nourrir en des milieux qui ne suffiraient pas à en nourrir quelques-uns ? L'hypothèse s'effondre devant cette conséquence absurde.

D'autres hypothèses, également vaines, ont encore été énoncées.

On a supposé que les humeurs des animaux réfractaires ou peu sensibles à l'action d'un microbe renferment une substance antagoniste des toxines qu'ils produisent et par lesquelles ils agissent sur l'organisme (en admettant que tel soit le mode d'action des microbes pathogènes) ; en réalité, on a démontré que quelques microbes agissent bien ainsi, bacille diphtérique, bacille tétanique p. ex. ; mais, pour la plupart des microbes pathogènes, l'infection ne se réduit pas à une intoxication.

On a encore supposé que l'état réfractaire est la conséquence d'une action exercée par les humeurs sur les microbes, et qui les priverait de la faculté qu'ils ont de fabriquer des toxines.

Ces hypothèses ne résistent pas à l'examen des faits.

Si on inocule dans le péritoine de cobayes ou de lapins des bacilles tétaniques, qu'on a totalement débarrassés (par séries de centrifugations et de lavages à l'eau salée) du liquide de culture dans lequel ils se trouvaient et de la toxine qu'il renfermait, l'animal résiste. Si on

injecte une très petite quantité de culture filtrée, ou des bacilles qu'on n'a pas totalement débarrassés du liquide dans lequel ils s'étaient développées, l'injection étant faite, comme ci-dessus, dans le péritoine de lapins ou de cobayes, l'animal meurt tétanique. On ne saurait prétendre que l'immunité de tout à l'heure était la conséquence d'une neutralisation par les humeurs de l'animal de toxine produite par les bacilles inoculés, puisque la neutralisation de la toxine injectée ne se fait pas.

Supposons que nous disposions de bacilles tétaniques débarrassés de toute trace du milieu toxique dans lequels ils s'étaient développés, — ou d'une culture de bacilles tétaniques chauffée à 85° (la toxine tétanique est détruite ; les bacilles sous leur forme végétative sont tués ; mais les spores tétaniques demeurent inaltérées). Injectons l'un ou l'autre de ces produits dans le péritoine du cobaye ou du lapin dans des conditions spéciales (p. ex. en mélangeant la matière avec un peu de terre ou de poussière fine stérilisées) : les animaux présentent les symptômes d'un tétanos mortel. Si l'injection est faite sans addition de quoi que ce soit aux bacilles lavés où à la culture chauffée à 85°, l'animal résiste. Si cette immunité était due à une action exercée par les humeurs sur les bacilles, et qui les empêcherait de produire des toxines, pourquoi cette action se produirait-elle dans un cas et non dans l'autre ?

En résumé, d'une façon générale, l'immunité naturelle ne relève ni d'un pouvoir microbicide des humeurs, ni de leur incapacité à satisfaire aux besoins alimentaires des microbes, ni d'un pouvoir antitoxique de ces humeurs, ou de quelque action qu'elles exerceraient sur le microbe pour l'empêcher de produire, ou tout au moins d'excréter des toxines. Il faut chercher ailleurs. — Injectons dans les veines d'un animal un microbe auquel cet animal n'est pas sensible ; imaginons que nous ayons approximativement déterminé le nombre des microbes inoculés (20 000 000 p. ex.). Après 1/2 h. ou 1 h., faisons une prise de sang, déterminons la quantité de microbes contenus dans un volume donné de ce sang, et calculons la quantité qui doit se trouver dans le sang total de l'animal, approximativement bien entendu. On en trouve beaucoup moins qu'on en avait inoculé, 10 000 fois, 20 000 fois moins p. ex. Que sont devenus les autres ? Ont-ils été rejetés par les reins avec l'urine, par le foie avec la bile, par les glandes cutanées avec la sueur, par la muqueuse intestinale dans les fèces ?

Certains auteurs l'ont soutenu, et, à l'appui de leur dire, ils ont apporté des résultats qui démontrent la présence dans l'urine de bacilles typhiques dans le cours de la fièvre typhoïde, de bactéridies dans le cours de la maladie charbonneuse, de streptocoques aussi, etc. Mais, de ce que des microbes passent dans l'urine au cours des infections, alors que le rein est sans doute plus ou moins altéré ou modifié, il ne s'en suit pas que les microbes inoffensifs pour un animal, et qui, par suite, n'ont produit en lui ni trouble ni modification, doivent passer à travers le rein, qui est sain. En fait, on ne retrouve jamais ces microbes inoffensifs ni dans la bile, ni dans la salive, ni dans la sueur.

Les microbes injectés dans le sang, et qui si rapidement y disparaissent, ne sont donc pas éliminés par l'urine, ou par quelque autre liquide organique. Comme les humeurs de l'animal ne sont pas toxiques pour le microbe injecté (au moins dans la très grande majorité des cas), on ne saurait admettre qu'il en soit mort en si grand nombre en un si court espace de temps (1/2 h. ou 1 h.), et dont les cadavres ne se retrouvent plus.

Avant d'aborder le problème de la disparition des microbes injectés dans un organisme réfractaire, nous allons faire une assez longue digression. Ainsi procèdent parfois les géomètres quand ils rencontrent sur leur chemin un obstacle qu'ils ne parviennent pas à renverser en l'abordant de front. Ils s'appliquent à résoudre un lemme (c'est là une digression géométrique), grâce auquel ils auront aisément raison de l'obstacle, qui leur avait tout d'abord paru insurmontable.

Si on enfonce dans la cavité péritonéale d'un cobaye, à travers les plans de la paroi abdominale, un tube très effilé, on voit monter dans la partie capillaire un liquide incolore, transparent, dans lequel sont de rares éléments figurés, des *lymphocytes* surtout (leucocytes peu volumineux formés par un noyau central sphérique recouvert d'une très mince couche protoplasmique) et quelques *leucocytes polynucléaires* (constitués par une masse assez abondante de protoplasma finement granuleux, dans lequel on reconnaît un noyau très irrégulier, formé de 3 à 4 parties unies par des prolongements filamenteux).

Injectons dans le péritoine du cobaye 5 c.c. de bouillon. Quelques minutes après l'injection, le liquide est encore remarquablement limpide : à peine y trouve-t-on quelques très rares éléments figurés,

si rares qu'on peut admettre que ceux qui étaient antérieurement contenus dans cette cavité ont disparu, soit qu'ils aient été détruits, soit qu'ils aient émigré, soit qu'ils se soient fixés sur les organes intra-péritonéaux (mésentère, épiploon, p. ex.).

On a parfois désigné ce phénomène de la diminution du nombre. ou de la disparition des leucocytes du liquide péritonéal sous le nom de *leucolyse* ; mais cette expression dépasse les faits observés, car elle conduit à supposer que les leucocytes sont alors détruits, ou tout au moins transformés, ce qui est rien moins que certain. Mieux vaudrait parler ici d'*hypoleucocytose* ou de *leucopénie,* ce qui est la traduction verbale du fait observé, diminution du nombre des leucocytes présents.

Un peu plus tard (3/4 h. à 1 h. après l'injection), le liquide péritonéal devient légèrement opalescent; on y reconnaît de nombreux leucocytes polynucléaires, avec quelques lymphocytes. Le temps passant, le liquide devient trouble et visqueux (en raison de la présence d'innombrables éléments organisés et de la résorption d'une partie du liquide injecté). Il y a hyperleucocytose, ou augmentation du nombre des leucocytes présents.

A ce moment (5 à 6 h. p. ex. après l'injection), les leucocytes polynucléaires et les quelques lymphocytes que nous signalions ne sont plus seuls à peupler le liquide péritonéal : on y reconnaît en effet des éléments nouveau-venus, très grosses cellules (elles ont un volume égal à celui que présenteraient 3 ou 4 polynucléaires réunis), incolores, formées d'une masse protoplasmique très vacuolaire dans laquelle est un noyau globuleux. On appelle ces éléments les *gros mononucléaires* dans le langage histologique ; on les appelle plutôt *macrophages*, la dénomination de *microphages* étant réservée aux polynucléaires, quand on adopte le langage biologique, les lymphocytes, dont le rôle physiologique n'est pas connu n'étant pas pris en considération. Nous justifierons ci-dessous ces dénominations, qui signifient les grosses et les petites cellules mangeuses ou dévorantes.

Au bout de 24 heures, le liquide intrapéritonéal n'a pas changé d'aspect : il est trouble et visqueux ; mais la proportion des microphages et des macrophages n'est plus la même que la veille : les macrophages ont augmenté de nombre, et s'ils sont encore moins nombreux que les microphages, le rapport tend pourtant vers l'unité. Un peu plus tard, les microphages disparaissent progressivement, laissant les macrophages prédominer. Puis, peu à peu les macrophages deviennent moins abondants ; l'exsudat n'est plus trouble, il est seulement opalescent. Enfin, quelques jours après l'injection, la sérosité péritonéale est redevenue ce qu'elle était avant l'injection.

Nous avons assisté là à une *double invasion leucocytaire* : une première invasion, assez précoce, de microphages, une seconde, un peu

plus tardive, de macrophages. A chacune de ces invasions, correspond une phase de flux et une phase de reflux, se succédant régulièrement : afflux de microphages, afflux de macrophages, reflux des microphages, reflux des macrophages.

Dans la cavité péritonéale du cobaye, injectons du sang défibriné d'un animal d'une autre espèce, c'est-à-dire, avec du sérum comme véhicule, des éléments figurés, et, pour qu'il soit facile de suivre le sort de ceux-ci, choisissons-les tels qu'ils ne puissent être confondus avec des hématies de cobaye : les hématies de cobaye sont discoïdes et anucléées, utilisons des hématies d'oiseau (d'oie p. ex.), qui sont ovoïdes et nucléées.

Presque aussitôt après l'injection, les leucocytes du cobaye disparaissent à peu près complètement (phase d'hypoleucocytose). Au bout de 1 h. ou un peu plus, ils commencent à revenir, comme ils revenaient dans les expériences d'injection de bouillon. On note toutefois une différence : ci-devant, nous avons reconnu deux invasions leucocytaires successives nettement distinctes, une microphagique d'abord, une macrophagique ensuite ; présentement les deux afflux sont simultanés ; le liquide péritonéal se peuple de microphages et de macrophages, ces derniers étant les plus nombreux d'emblée. Le nombre des leucocytes augmente progressivement dans le liquide péritonéal, jusqu'à atteindre une valeur considérable.

Si, 2 à 3 h. après l'injection, on examine le liquide péritonéal, on reconnaît que les microphages n'ont contracté aucun rapport avec les hématies d'oie ; les macrophages, au contraire, se présentent accompagnés d'hématies nucléées, qui leur sont très intimement accolées, grâce sans doute à de minimes prolongements issus de la zone périphérique du protoplasma macrophagique, et qui semblent très adhérents à la surface de l'hématie. — Un peu plus tard, les hématies pénètrent dans le protoplasma du macrophage en nombre plus ou moins grand, selon l'abondance et la concentration du sang injecté. Les microphages ne prennent pas plus part à l'*englobement des hématies* qu'à leur fixation.

Lorsque la quantité de sang défibriné d'oie injectée est assez considérable, l'absorption des hématies par les macrophages ne s'achève qu'en plusieurs jours. Durant tout le temps qu'elles demeurent libres dans le péritoine du cobaye, les hématies d'oie ne présentent aucune détérioration apparente : elles conservent leur forme et leur structure ; elles retiennent leur hémoglobine ; elles présentent les colorabilités des hématies fraîches. Il en est de même pour les hématies accolées aux macrophages ; mais il en est tout autrement pour les hématies englobées pour les macrophages. Tout d'abord, les colorabilités des hématies (noyau et protoplasma hémoglobinique) sont modifiées, ce qui traduit une première altération ; puis l'hémoglobine diffuse de

l'hématie dans le protoplasma macrophagique et même dans le liquide ambiant; enfin le protoplasma d'abord et, notablement plus tard, le noyau de l'hématie se désagrègent et disparaissent dans le protoplasma du macrophage: toutes ces transformations se succèdent lentement, le tout demande pour se parachever quelques semaines.

Les macrophages ayant englobé des hématies ne demeurent pas indéfiniment libres dans le liquide péritonéal. En général, si la quantité de sang d'oie injectée est petite, déjà 3 ou 4 jours après l'injection, aucun des éléments figurés contenus dans la cavité du péritoine ne renferme d'hématies ou de débris d'hématies. Les macrophages, qui ont englobé les hématies et qui dès lors sont facilement reconnaissables, se retrouvent dans l'épiploon, dans les ganglions mésentériques, dans le foie et dans la rate : c'est là que s'achève la *destruction intraprotoplasmique des hématies*, ou, comme disent certains auteurs, la *digestion intracellulaire* (intramacrophagique) de ces hématies.

Les résultats seraient les mêmes si au lieu d'hématies d'oie, on utilisait des hématies de poules, de pigeons, etc. ; ils seraient équivalents, si on utilisait des hématies de mammifères.

Notons incidemment que des leucocytes mononucléaires en apparence tout à fait semblables, se comportent différemment vis-à-vis des hématies étrangères : tel élément a englobé de nombreuses hématies ; tel autre n'en a englobé qu'une, tel autre semble inapte à en englober aucune. Pourquoi ? Nous ne le savons pas : nous sommes en présence de ces différences qui sont si fréquemment observables chez les éléments organisés vivants.

Injectons dans le péritoine du cobaye des *spermatozoïdes* de taureau, ou de lapin, etc. (en réalité du sperme, c'est-à-dire un liquide dans lequel sont les spermatozoïdes) ; ces spermatozoïdes sont animés de mouvements très actifs, et progressent dans le milieu, grâce aux ondulations de leur queue. Rien n'est plus simple que de savoir s'ils sont vivants et bien vivants : il suffit de constater l'existence et la vivacité de ces mouvements.

A la suite de cette injection, l'hypoleucocytose se produit; les spermatozoïdes ne sont pas altérés histologiquement, ni modifiés fonctionnellement dans le milieu où on les introduit : leurs mouvements demeurent amples et puissants. Bientôt les leucocytes réapparaissent : ce sont tout à la fois des microphages et des macrophages, dont le nombre augmente progressivement. Les macrophages s'accolent aux spermatozoïdes, et on voit ceux-ci, malgré qu'ils soient fixés par quelque partie, agiter vivement leur queue, ce qui établit qu'ils ont été fixés par le macrophage, étant vivants et bien vivants. Peu à peu les macrophages englobent ces spermatozoïdes, qu'on voit s'enliser dans la masse macrophagique, durant que les parties demeurées

libres continuent à présenter de très vifs mouvements : l'englobement, comme l'accolement, se produit donc pour des éléments vivants.

Notons que quelques spermatozoïdes, la très petite minorité toutefois, s'accolent à des microphages et se laissent englober par eux. Ce fait bien constaté montre que, si les macrophages (qui, vis-à-vis des hématies, étaient seuls en jeu) sont les plus importants agents d'englobement des spermatozoïdes, ils ne sont pas les agents exclusifs de cet englobement.

Après quelques heures, tous les spermatozoïdes ont été englobés, et peu à peu ils subissent une désagrégation totale dans le protoplasma leucocytaire, la queue disparaissant d'abord, la tête plus tard et plus lentement.

L'injection des hématies ou des spermatozoïdes peut être faite *dans le tissu cellulaire sous-cutané* : les résultats, peut-être un peu moins faciles à constater, sont tout à fait équivalents. Si p. ex. on injecte du sang défibriné d'oie sous la peau du cobaye, on constate que des leucocytes envahissent la liqueur injectée, et que les macrophages englobent d'abord, font disparaître ensuite les hématies injectées.

Les éléments figurés, gros mononucléaires (ou macrophages) et polynucléaires (ou microphages) (nous verrons ci-dessous que, si les macrophages sont les agents d'englobement exclusifs ou essentiels des hématies et des spermatozoïdes, les microphages sont les agents d'englobement de la plupart des microbes) sont dits *phagocytes*, c'est-à-dire *cellules mangeuses* (on a assimilé, à tort ou à raison, l'englobement et la destruction des hématies, spermatozoïdes, etc., aux phénomènes de préhension des aliments solides pour les êtres unicellulaires) ; ils possèdent la *propriété phagocytaire* ; la *phagocytose* étant l'acte de l'englobement et de la destruction des éléments figurés par les leucocytes. Les lymphocytes ne nous sont pas apparu dans ces premières observations (et les prochaines seront, à ce point de vue, concordantes avec celles-ci) comme possédant la propriété phagocytaire : c'est dire que les deux expressions *leucocyte et phagocyte* ne sont pas équivalentes. Il y a des leucocytes qui ne sont pas phagocytes, et, d'autre part, il semble que certaines cellules non leucocytaires, contenues en divers organes, possèdent la propriété phagocytaire.

Nous voilà suffisamment documentés pour aborder utilement l'étude de la résorption des microbes par les leucocytes, autrement dit l'étude de la phagocytose microbienne.

Injectons dans le péritoine du cobaye une petite quantité d'une culture de *streptocoques*, d'une variété vis-à-vis de laquelle le cobaye manifeste une immunité naturelle

très nette. Le phénomène d'hypoleucocytose se produit, puis les leucocytes arrivent, augmentant rapidement en nombre, s'accolent aux streptocoques et les englobent. Ce sont ici les microphages qui jouent le rôle principal, sinon exclusif, dans cette résorption, peut-être tout simplement parce qu'arrivés les premiers, ils ont trouvé les microbes en surabondance autour d'eux.

Injectons dans le péritoine du cobaye une petite quantité d'une culture de *vibrion cholérique,* choisi parmi les variétés d'activité pathogène moyenne. Dans les moments qui suivent l'injection, on reconnaît que les vibrions inoculés présentent des mouvements très vifs dans le liquide péritonéal, dont presque tous les leucocytes ont disparu ; seuls, quelques rares lymphocytes sont demeurés, qui n'exercent d'ailleurs aucune action sur les vibrions. Puis l'afflux leucocytaire se produit : ce sont en majorité, mais pourtant pas exclusivement, des microphages (quelques macrophages sont présents. Les vibrions, toujours très mobiles, s'accolent aux uns et aux autres, puis s'enfoncent dans leur protoplasma. On voit, au moins parfois et au moins pendant quelque temps, des vibrions contenus dans les vacuoles du protoplasma macrophagique exécuter encore des mouvements, ce qui montre bien qu'ils ont été englobés vivants. Bientôt les vibrions englobés, surtout dans les microphages, subissent la transformation granuleuse (dont nous avons parlé en étudiant la bactériolyse, p. 255), témoin histologique de leur mort. En quelques heures, tous les vibrions sont phagocytés, ou à très peu près.

Injectons dans le péritoine du cobaye du sérum humain contenant les *spirilles de la fièvre récurrente.* Après l'inévitable hypoleucocytose de début, les leucocytes arrivent : ce sont d'abord des microphages, qui n'exercent aucune action phagocytaire sur les spirilles, dont les rapides mouvements ne sont pas modifiés ; plus tard, mais seulement notablement plus tard, des macrophages apparaissent dans le milieu : ils fixent les spirilles, les englobent et les font progressivement disparaître dans la masse de leur protoplasma.

On a suivi au microscope les phases successives de la phagocytose d'un spirille voisin, mais pourtant distinct du précédent, le spirille qui détermine chez l'oie une septicémie mortelle. Injectons dans le péritoine du cobaye du sang d'oie contenant de tels spirilles : pendant plusieurs heures, ces microbes demeurent libres au milieu des microphages qui s'accumulent dans la liqueur ; mais tardivement, plusieurs heures après l'injection, les macrophages arrivent à leur tour. Examinons en goutte pendante un peu du liquide péritonéal prélevé à ce moment. On y voit des macrophages pousser des pseudopodes vers les spirilles et les fixer : le microbe ainsi retenu présente de vifs mouvements ondulatoires, mais il s'enfonce peu à peu dans le protoplasma macrophagique, sans cesser d'agiter sa portion encore libre. Une fois englobé d'ailleurs, il subit rapidement une modification de structure, qui fait qu'on ne peut plus le distinguer du protoplasma ambiant.

Notons, en passant, que les microphages ne résorbent pas les spirilles, et rapprochons ce fait de cet autre, antérieurement signalé, que dans la résorption des hématies d'oie, dans le péritoine du cobaye, seuls les macrophages jouent un rôle. Nous venons de reconnaître qu'au contraire microphages et macrophages participent, ou tout au moins peuvent participer à la résorption des vibrions cholériques et des streptocoques. Cette remarque nous rappelle qu'il ne convient pas de généraliser prématurément en microbiologie : avant de s'y décider et de conclure, on ne saurait réunir trop de faits.

Injectons dans le tissu cellulaire sous-cutané du rat une culture de *bactéridies* : une exsudation séreuse se produit, dans laquelle arrivent bientôt des leucocytes, des microphages d'abord et en surabondance, qui transforment la sérosité, primitivement claire et transparente, en un liquide trouble et assez nettement visqueux. L'examen microscopique montre que les bactéridies sont englobées par les leucocytes, surtout par les microphages, qui en sont littéralement bondés.

La phagocytose s'applique non seulement aux microbes sous leur forme végétative, mais aussi à leurs *spores* : nous en avons un exemple avec les spores tétaniques. Si, dans le péritoine du cobaye,

on injecte des bacilles et spores tétaniques, préalablement débarrassés de toxine par lavages répétés, on voit s'établir une phagocytose microphagique des plus nettes, et il est facile de reconnaître, au milieu des granulations des leucocytes polynucléaires, ces spores (grâce à leurs dimensions et à leurs colorabilités) et de les y voir se modifier et disparaître.

La phagocytose s'observe encore pour les *parasites protozoaires,* pour les *trypanosomes* p. ex. On trouve fréquemment dans le sang du rat un trypanosome : injectons dans le péritoine du cobaye un peu de sang du rat trypanosomé. Quelques heures après l'injection, il est encore parfaitement mobile, et ne présentant pas de modifications structurales appréciables, dans un liquide où les leucocytes sont rares. Assez tardivement, se produit un afflux de leucocytes et une phagocytose macrophagique se s'accomplit : on voit les trypanosomes, accolés aux macrophages, exécuter des mouvements très vifs de leur flagellum tant qu'ils n'ont pas été totalement englobés ; ils disparaissent d'ailleurs dans le protoplasma macrophagique avec une remarquable rapidité.

Nous avons signalé ci-dessus la phagocytose des hématies et celle des spermatozoïdes par les macrophages. Ces derniers peuvent aussi phagocyter des *microphages* remplis de microbes. On a p. ex. observé dans la rate et surtout dans le foie de rats ayant reçu antérieurement en injection intrapéritonéale des bactéridies, des macrophages renfermant dans leur protoplasma des microphages (reconnaissables à la forme de leur noyau et à la colorabilité de leurs granulations), qui eux-mêmes étaient remplis de bactéridies phagocytées.

En général, quand ils se trouvent côte à côte dans la cavité péritonéale, les microphages et les macrophages n'agissent pas les uns sur les autres : la phagocytose des premiers par les seconds ne se fait que dans des conditions spéciales.

On a dit que, d'une façon générale, *les macrophages phagocytent les cellules* (hématies, spermatozoïdes, microphages), tandis que *les microphages phagocytent les microbes.* Sous cette forme absolue, la proposition n'est pas absolument exacte. Nous avons noté que les spirilles sont englobés par les macrophages, et nous avons fait remarquer que, si les microbes en général sont surtout englobés par les microphages, c'est que ceux-ci sont les premiers venus, et que les macrophages, ouvriers de la dernière heure, ne rencontrent plus, bien souvent, que

de rares microbes, qu'ils phagocytent d'ailleurs parfaitement bien. Mieux vaudrait dire que les macrophages phagocytent les cellules et peuvent phagocyter les microbes, et que les microphages phagocytent la plupart des microbes (mais non pas tous les microbes : il en est quelques-uns, le bacille tuberculeux p. ex., qui ne sont phagocytés que par les macrophages). Chaque cas doit être examiné et traité pour lui seul.

Diverses substances favorisent cette phagocytose leucocytaire : on le constate in vitro par l'examen d'une phagocytose en goutte pendante. Le sérum, notamment *le sérum humain active la phagocytose* de microbes divers, des vibrions cholériques, p. ex. Injectons dans le péritoine du cobaye du bouillon, ou mieux un liquide rappelant le liquide de Locke (eau 100 ; chlorure de calcium 0,028 ; chlorure de potassium 0,042 ; bicarbonate de soude 0,015 ; chlorure de sodium 0,9). Retirons, 24 heures plus tard, un peu de ce liquide péritonéal et divisons-le en deux parts égales, auxquelles on ajoute respectivement la même quantité d'eau salée ou de sérum. Introduisons des vibrions cholériques dans les deux mélanges et suivons au microscope la phagocytose qui se produit dans ces liquides examinés en goutte pendante. Elle est manifestement plus rapide dans le mélange contenant le sérum.

On attribue cette propriété du sérum à la présence d'une substance spéciale, qu'on a appelée *opsonine*. Il suffira présentement d'avoir noté ce fait et prononcé ce nom. Nous reviendrons à l'étude des opsonines quand nous traiterons des mécanismes de l'immunité acquise.

L'action phagocytaire est favorisée par le *chimiotaxisme des leucocytes,* c'est-à-dire par la propriété qu'ils possèdent de se diriger vers tel point de l'organisme, où se trouvent et d'où diffusent certaines substances capables de les impressionner. Nous avons vu les leucocytes revenir nombreux et de plus en plus nombreux dans la cavité péritonéale du cobaye à la suite d'une injection qui les en avait provisoirement chassés (bouillon, culture microbienne), les microphages précédant généralement les macrophages. Nous avons vu les leucocytes, issus des capillaires sanguins par *diapédèse,* peupler le liquide de cul-

ture microbienne injecté sous la peau, ou l'exsudat provoqué par l'insertion de microbes dans le tissu cellulaire sous-cutané.

On a supposé que ces déplacements leucocytaires sont provoqués par des substances contenues dans les liquides injectés, qui diffusent progressivement dans les humeurs et qui vont impressionner les leucocytes, pour en provoquer la migration. A l'appui de cette hypothèse, on a présenté des preuves expérimentales. On a inséré sous la peau de cobayes, ou introduit dans la cavité péritonéale de lapins de petits tubes étroits, mais non capillaires, renfermant, soit une solution de chlorure de sodium, soit une culture microbienne (staphylocoques, bacilles typhiques, bactéridies, etc.). Après 24 heures, on a retiré les tubes. Les tubes à eau salée étaient sensiblement tels qu'on es avait introduits ; à peine y pouvait-on reconnaître quelques rares leucocytes. Les tubes à microbes, au contraire, présentaient dans la partie voisine de l'orifice un gros bouchon blanchâtre, assez ferme, ressemblant approximativement à de fausses membranes diphtériques, bouchon qui, examiné au microscope, se montre formé par une accumulation de leucocytes polynucléaires. Le chimiotaxisme de ces leucocytes est ainsi nettement manifesté. C'est un *chimiotaxisme positif*, et par ce qualificatif on désigne cette influence directrice dans le cas où elle détermine l'appel des leucocytes. Il existe des substances microbiennes ou autres, qui exercent une action de même nature, c'est-à-dire provoquent un déplacement des leucocytes, mais en sens inverse, repoussant ces leucocytes au lieu de les attirer. On parle alors de *chimiotaxisme négatif*.

N'insistons pas davantage pour le moment sur ces faits remarquables ; contentons-nous de noter que le chimiotaxisme des leucocytes est essentiellement fonction de l'espèce bactérienne en jeu, comme aussi de l'espèce de l'animal auquel appartiennent les leucocytes, et que la puissance pathogène plus ou moins grande du microbe étudié joue un rôle parfois prépondérant dans les questions de chimiotaxisme. Des faits qui seront exposés ci-dessous éclaireront ces notions en les justifiant et en les précisant.

Ces résultats acquis, nous pouvons aborder *le problème du mécanisme de l'immunité antimicrobienne naturelle*. Si nous procédions comme font les géomètres, énonçant

un théorème dont ils donnent ensuite la démonstration, nous pourrions dire : *la phagocytose est le pivot de l'immunité antimicrobienne naturelle.*

Nous séparons de la façon la plus nette les *intoxications microbiennes* et les *infections microbiennes*. Les intoxications (dont les types les mieux étudiés sont la diphtérie et le tétanos) relèvent de l'action exercée par une toxine engendrée par le microbe, diffusible dans le liquide de culture, et dont l'injection (on injecte en réalité non la toxine pure, mais le liquide qui la contient, débarrassé des microbes par filtration sur bougie de porcelaine dégourdie) provoque les accidents, identiques qualitativement et quantitativement à ceux que provoque l'inoculation de la culture totale, liqueur et microbes qu'elle contient. Dans les infections, par contre, l'inoculation du liquide de culture filtrée ne suffit pas à produire l'entière symptomatologie de la maladie correspondant à l'invasion de l'organisme par le microbe. Le bouillon de culture peut être toxique ; il peut provoquer la mort, au moins pour certaines cultures et pour des doses suffisantes ; mais, même dans ce cas, il ne réalise pas la maladie parfaite avec tous ses symptômes et jusque dans ses fins détails, comme le fait le microbe lui-même.

C'est de l'immunité anti-infectieuse, donc antimicrobienne proprement dite, que nous allons nous occuper, sans d'ailleurs chercher à résoudre le problème du mécanisme des accidents provoqués par l'infection, les données positives nécessaires pour y réussir, manquant actuellement.

La phagocytose des microbes inoculés dans le péritoine ou sous la peau se fait *sans que les microbes aient été préalablement tués, altérés ou modifiés par quelque substance contenue dans les humeurs de l'organisme.* Au moment de leur englobement en effet, les microbes ont conservé leurs mouvements, leurs formes, leur vitalité, leur activité pathogène, leurs colorabilités.

Nous avons indiqué ci-dessus que les vibrions cholériques présentent des mouvements normaux alors qu'ils sont déjà accolés aux microphages, que les spirilles en présentent dans les mêmes conditions, et plus tard encore, quand ils ont déjà partiellement pénétré dans le protoplasma macrophagique, que les spermatozoïdes enfin exécutent de vives ondulations caudales alors que leur tête est déjà profondément enfouie dans le phagocyte qui doit les absorber.

Les vibrions cholériques, ces microbes éminemment fragiles, et qui

subissent sous des influences délicates la transformation granuleuse, témoin de leur mort, sont englobés sous leurs apparences normales et ne manifestent la transformation granuleuse que quelque temps après avoir été englobés.

Après avoir injecté des vibrions cholériques dans le péritoine du cobaye, nous suivons exactement les phénomènes de la phagocytose qui s'établit, et, quand nous constatons, après quelques heures, que tous les vibrions ont été englobés par les leucocytes, nous prélevons un peu du liquide péritonéal, pour le mélanger avec un peu de bouillon : dans ce mélange conservé à 40°, les vibrions se multiplient rapidement dans les leucocytes qui les ont englobés, les remplissent et les font éclater pour se répandre dans le milieu. La culture ainsi obtenue a d'ailleurs la même puissance pathogène que la culture primitive dont on était parti.

Les microbes sont donc englobés vivants et intacts dans le protoplasma phagocytaire. Après y avoir séjourné plus ou moins longtemps selon leur nature, selon l'espèce à laquelle appartient l'animal inoculé et selon les conditions dans lesquelles se fait l'essai, *ils subissent des changements morphologiques et histo-chimiques,* qui correspondent à *leur désagrégation* et à *leur mort.*

Le microbe se gonfle souvent, devient ovoïde, ou se fragmente. On le constate nettement dans les expériences faites sur le cobaye avec le vibrion cholérique, le bacille typhique, le microbe du choléra des poules, etc. Quelquefois le microbe paraît résister et résiste en effet plus ou moins longtemps, mais un moment arrive toujours où se présentent les changements caractéristiques de la mort : le bacille diphtérique p. ex. conserve longtemps sa forme effilée, mais au bout de plusieurs jours il se fragmente et disparaît.

Les microbes libres et vivants ont une affinité très grande pour les couleurs basiques, pour le bleu de méthylène p. ex. Quand ils sont englobés par les phagocytes depuis quelque temps, ils présentent une affinité très vive pour les couleurs acides, pour l'éosine p. ex., et cette coloration traduit un changement chimique de leur protoplasma. Quand on dispose d'un transsudat péritonéal, dans lequel s'accomplit une phagocytose, on peut, en le traitant par un mélange de bleu de méthylène et d'éosine, colorer en bleu les microbes libres et en rose, ou en une teinte intermédiaire au bleu et au rose les microbes englobés.

En résumé, les phagocytes englobent des microbes vivants et actifs ; après les avoir englobés, ils les tuent

et les désagrègent, et, ce faisant, protègent l'organisme contre les envahisseurs.

Mais il y a plus. On peut démontrer que dans l'immunité antimicrobienne naturelle, *la phagocytose est tout.* C'est parce que, chez tel animal, la phagocytose des éléments appartenant à une espèce microbienne se produit active et totale que l'immunité existe; c'est parce que, chez tel autre animal, la phagocytose de cette espèce microbienne ne se produit pas, ou ne se produit qu'incomplètement, que l'animal est sensible à l'infection et contracte la maladie. C'est parce que telle condition nouvelle entraîne la suppression de la phagocytose, qui, sans elle, s'effectuerait, chez un animal donné, pour une espèce microbienne donnée, qu'elle supprime en même temps l'immunité que présentait l'animal contre l'infection correspondante.

De ces propositions importantes, voici les démonstrations :

Injectons sous la peau du lapin une petite quantité d'une culture du *microbe du choléra des poules* : il se produit généralement une infiltration séreuse très pauvre en leucocytes, dans laquelle les microbes se multiplient à l'infini, car les phagocytes manquent pour les englober : la maladie éclate et tue le lapin. Injectons sous la peau du cobaye la même quantité de la même culture : il se produit une exsudation séreuse, dans laquelle affluent bientôt d'innombrables leucocytes, qui sont essentiellement des microphages ; ils englobent les microbes jusqu'à n'en laisser aucun libre, et leur font subir la destruction histologique dans leur protoplasma : la maladie ne se développe pas ; le cobaye survit toujours ; il s'est simplement formé un abcès qui s'ouvre au dehors, se vide et se cicatrise peu à peu. Phagocytose et immunité sont ici intimement liées

C'est assurément étrange, notons-le en passant, de voir ce microbe ne déterminer aucun accident local reconnaissable chez le lapin, pour lequel il est mortel, et provoquer la formation d'un abcès chez le cobaye, pour lequel il est non dangereux. En vérité, l'abcès constaté n'a pas la signification d'un accident pathologique ; il est l'indice d'une réaction de défense de l'organisme contre l'infection.

Injectons sous la peau du rat des *bactéridies* d'activité pathogène moyenne et en quantité modérée : un exsudat local apparaît, qui, assez rapidement, se peuple de microphages : la phagocytose se produit ; le rat ne présente pas d'accidents, ni légers ni graves, ni temporaires ni durables. Injectons la même quantité de la même culture

bactéridienne sous la peau du lapin ou du cobaye, l'exsudat qui se forme est beaucoup plus volumineux ; les leucocytes y sont plus rares, moins pressés d'englober les bactéridies ; celles-ci se développent et se multiplient ; la phagocytose ne s'accomplit que partiellement ; la maladie éclate, s'aggrave et provoque la mort.

Si, dans ces essais avec les bactéridies, on injecte des cultures riches en spores, on constate que, chez les rats, comme chez les lapins ou les cobayes, les spores germent et se développent au point d'inoculation, tant que les leucocytes ne sont pas arrivés. Quand l'afflux leucocytaire se produit, on constate, chez le rat, que la phagocytose des bactéridies et des spores se fait rapidement : l'infection est bloquée ; on constate par contre, chez le lapin ou le cobaye, que les phagocytes ne suffisent pas à la tâche n'étant pas assez nombreux : de nombreuses spores germent trop vite et leur abondante prolifération couvre, et au delà, le déficit résultant de la faible phagocytose qui se produit.

Voici une culture de *streptocoque* d'une activité très considérable. Il suffit d'en injecter 0 c.c. 000 001 chez le lapin pour le tuer ; le cobaye résiste à l'injection de 0 cc. 1. Supposons qu'ayant injecté dans le péritoine du lapin et du cobaye du bouillon, pour y attirer de nombreux leucocytes, nous y fassions pénétrer, 24 h. plus tard, 0 c.c. 01 de la culture streptococcique considérée. Chez le cobaye, la phagocytose est rapide et complète ; chez le lapin, elle est plus lente et surtout fort incomplète, de sorte que les microbes se multiplient rapidement. Le cobaye, dans les conditions expérimentales indiquées, ne présente pas d'infection et survit ; le lapin en présente une, rapidement mortelle.

Donc, *là où il y a phagocytose totale, il y a immunité naturelle ; là où la phagocytose manque, ou est insuffisante, il y a infection.*

La même démonstration peut se faire sur un seul et même animal, en employant des variétés diverses d'une même espèce microbienne.

Supposons que nous disposions de *deux variétés de streptocoques*, qui dérivent d'une souche commune, mais dont l'une a acquis (par des artifices qu'il est inutile d'indiquer ici) une action pathogène considérable pour le lapin, tandis que l'autre se montre à peine pathogène pour lui. Introduisons respectivement dans le péritoine ou sous la peau de deux lapins une même quantité de l'une ou de l'autre variété de streptocoque. Là où l'on a inoculé le streptocoque peu actif, les leucocytes affluent vite et nombreux ; la phagocytose se pro-

duit totale ; l'infection ne se développe pas. Là où l'on a inoculé le streptocoque très actif, les leucocytes ne viennent pas et par conséquent il n'y a pas phagocytose ; les microbes se multiplient : c'est l'infection et la mort.

Les résultats de ces essais sont si nets qu'on n'a pas hésité à formuler cette proposition : un streptocoque actif est un streptocoque qui échappe à la phagocytose ; un streptocoque inactif, ou peu actif, est un streptococque qui se laisse facilement phagocyter.

La bactéridie nous offre des variétés plus ou moins énergiquement pathogènes : on connaît p. ex. une bactéridie peu pathogène (*premier vaccin pasteurien*), une bactéridie un peu plus fortement pathogène (*second vaccin pasteurien*) et des *bactéridies très pathogènes*. Le lapin est généralement réfractaire aux deux vaccins pasteuriens ; il est sensible aux bactéridies très pathogènes. Injectons sous la peau du lapin une culture de l'un ou de l'autre des vaccins pasteuriens, il se forme une exsudation locale, qui ne tarde pas à se remplir de leucocytes (si nombreux que le liquide est trouble), qui accomplissent leur travail de phagocytes. Injectons au contraire la bactéridie très pathogène sous la peau du lapin, il se produit une exsudation séreuse très limpide et très claire (parce qu'elle est extrêmement pauvre en leucocytes), où la phagocytose ne se produit pas, ou presque pas. Dans le premier cas (vaccins pasteuriens), le lapin survit sans accidents ; dans le second (bactéridie très pathogène), il contracte une maladie rapidement mortelle.

On peut faire l'expérience sur un seul lapin, en injectant le vaccin pasteurien sous le peau de l'oreille, et la bactérie pathogène sous la peau de l'autre oreille : rien n'est plus simple que de puiser dans les exsudats qui se sont produits pour les examiner au microscope.

Chez le cobaye, l'immunité n'existe que pour le premier vaccin pasteurien. Chez lui, l'afflux leucocytaire abondant et la phagocytose totale ne se produisent que pour ce premier vaccin, et nullement pour le second vaccin, ou pour la bactéridie très pathogène.

Donc, partout et toujours, *immunité naturelle est synonyme d'afflux leucocytaire et de phagocytose.*

La démonstration peut encore revêtir une autre forme, plus parfaite assurément. *Il est possible* en effet sur un même animal et avec le même microbe, *de réaliser l'immunité ou l'infection, selon qu'on adopte telles ou telles dispositions, permettant à la phagocytose de s'accomplir, ou l'empêchant de fonctionner.*

Une culture de *bacilles tétaniques* riche en spores est chauffée à

85° : les bacilles sous la forme végétative sont tués, la toxine est détruite; les spores, par contre, ne sont pas modifiées et conservent intégralement leur propriété de germer. Introduisons cette culture ainsi partiellement stérilisée sous la peau du cobaye ou du lapin : les spores commencent à germer, mais bientôt arrivent les leucocytes qui englobent bacilles et spores, sans en laisser un seul ou une seule : le cobaye ou le lapin ne présentent pas d'accidents. — *Englobons la culture chauffée à 85° dans un petit bloc de gélose* et insérons-le sous la peau du lapin ou du cobaye; les leucocytes ne peuvent pénétrer dans la masse de gélose, dans laquelle les spores germent, et les bacilles néoformés y sécrètent leur toxine, qui, diffusant, imprègne l'organisme et provoque un tétanos mortel.

On obtient des résultats semblables si on insère sous la peau du lapin ou du cobaye des *spores tétaniques* (culture tétanique chauffée à 85°) *mélangées à du sable extrêmement fin préalablement stérilisé*. La progression des phagocytes vers les spores est ralentie et la phagocytose est au moins partiellement entravée : les spores germent, les bacilles fabriquent la toxine diffusible et la mort s'ensuit. Moins élégante et moins exacte que la précédente (expérience du bloc de gélose), cette démonstration est intéressante en ce qu'elle répète un fait naturel : c'est en effet l'image de ce qui se passe souvent dans l'infection tétanique médicale. Les spores tétaniques sont contenues dans la terre végétale, et pénètrent avec celle-ci dans les anfractuosités d'une plaie irrégulière : la souillure de la plaie par la terre constitue une condition favorable à l'éclosion du tétanos, en raison de ce que la phagocytose est ralentie et rendue plus difficile par les éléments minéraux présents.

L'afflux leucocytaire se fait plus péniblement dans la *chambre antérieure de l'œil* que partout ailleurs. Nous pouvons utiliser cette observation pour faire sous une autre forme la même démonstration. Le pigeon est réfractaire au charbon si l'inoculation de la bactéridie est faite sous la peau ou dans les muscles, là où les phagocytoses arrivent vite et surabondamment; le pigeon est sensible au charbon si l'inoculation de la bactéridie est faite dans la chambre antérieure de l'œil, là où les phagocytes n'arrivent que très tardivement et en fort petit nombre. — Le lapin est réfractaire au charbon symptomatique quand l'inoculation est pratiquée sous la peau ou dans le péritoine; il contracte une maladie mortelle quand l'inoculation est faite dans la chambre antérieure de l'œil. Et rien ne serait plus facile que de donner d'autres exemples équivalents.

La plupart des immunités antimicrobiennes ne sont que relatives ; elles cèdent bien souvent quand on injecte une *quantité surabondante de microbes*. Affaire de phagocy-

tose complète dens le cas d'immunité ; affaire de phagocytose insuffisante dans le cas d'infection, répèterons-nous.

Injectons dans le péritoine du cobaye une petite quantité de streptocoques, il se produit un afflux considérable de microphages, qui très rapidement et, semble-t-il, très aisément englobent la plupart des microbes, n'en laissant libres que quelques-uns (qui présentent quelques particularités), qui sont d'ailleurs englobés finalement et subissent comme les premiers l'anéantissement intraphagocytaire. La phagocytose est totale ; l'animal ne présente pas d'accidents.

Injectons dans le péritoine du cobaye une grande quantité des mêmes streptocoques ; l'afflux leucocytaire se produit comme ci-devant ; la phagocytose se fait comme tout à l'heure ; mais elle se ralentit finalement (comme si les leucocytes gorgés de streptocoques n'avaient plus d'appétit, pourrait-on dire, non pour expliquer le fait, mais pour le souligner) ; le nombre des streptocoques demeurant libres est plus grand qu'il n'était dans le premier essai ; ces streptocoques libres présentent d'ailleurs des modifications notables, s'entourant p. ex. d'une auréole claire (qui n'était ci-devant qu'esquissée), et ne se laissant pas englober, comme s'ils repoussaient, ou tout au moins tenaient à distance les phagocytes. Ces streptocoques ne tardent pas à se multiplier, engendrant des microbes insaisissables pour les leucocytes, et qui provoquent une maladie mortelle.

Enfin, les agents divers qui *atténuent l'activité vitale des leucocytes* favorisent ou permettent l'infection d'animaux, qui, à l'état normal, jouissent d'une immunité naturelle.

On a cité divers agents médicamenteux, la quinine, p. ex. et quelques autres, comme favorisant les infections ; et justement ces mêmes substances se sont révélées toxiques pour les leucocytes. Nous n'insistons pas sur ces faits, parce que les expériences correspondantes ne semblent pas avoir été faites avec toute la précision désirable.

La *poule* est remarquablement résistante au *charbon bactéridien* (malgré que, dans les essais in vitro, la bactéridie se développe admirablement bien dans le sérum de poule à 40-41°, température normale de la poule) : les bactéridies et leurs spores sont phagocytées avec une remarquable rapidité quand on les inocule sous la peau (ou dans les muscles) des poules. Mais la poule prend le charbon et en meurt, quand, avant de pratiquer l'inoculation bactéridienne, on l'a refroidie, en la plongeant jusqu'à mi-ventre dans l'eau froide, et en

l'y maintenant durant quelques heures après l'inoculation (la tempé rature de la poule s'est abaissée de quelques degrés). Or, chez la *poule refroidie*, l'arrivée des leucocytes est retardée, leur nombre est diminué, leur activité phagocytaire est amoindrie, si bien que, dans la sérosité charbonneuse, au point d'inoculation, on ne trouve que quelques phagocytes ayant englobé de rares bactéridies ; le plus grand nombre de celles-ci demeure hors des leucocytes, présentant une vitalité florissante et se multipliant à l'infini.

On aurait, paraît-il, obtenu les mêmes résultats, tant pour la phagocytose amoindrie que pour l'infection réalisée, en traitant la poule par le chloral, ou par quelques autres médicaments, qui diminuent l'activité phagocytaire.

Le *chien normal est réfractaire au charbon bactéridien* : la phagocytose se fait chez lui rapide et totale. Mais le *chien enragé contracte aisément un charbon mortel* : l'afflux leucocytaire et la phagocytose sont, chez lui, atténués et ralentis. Toujours et partout, nous constatons la liaison de la phagocytose et de l'immunité. Ici d'ailleurs nous notons le fait sans l'expliquer : nous ignorons pourquoi chez le chien enragé les leucocytes n'accomplissent pas leur tâche phagocytaire.

Ces divers exemples, pris parmi beaucoup d'autres équivalents, suffisent amplement à démontrer que là où il y a phagocytose rapide et totale, il y a immunité antimicrobienne naturelle, et que là où manque l'immunité, c'est la phagocytose qui ne se fait pas, ou qui ne se fait que partiellement. C. Q. F. D., écririons-nous volontiers, si nous revenions au langage géométrique, dont nous usions ci-dessus en énonçant ce théorème : *la phagocytose est le pivot de l'immunité antimicrobienne naturelle.*

Et si l'on nous disait que notre conclusion est peut-être trop catégorique, qu'en réalité il est des sérums (celui du lapin, p. ex.) qui jouissent d'un pouvoir microbicide non douteux (car mélangé avec des cultures de bacilles typhiques, de vibrions cholériques, de bactéridies, etc., il en tue une certain nombre, comme on peut le vérifier par les méthodes de numération des microbes), nous répondrions que nous ne contestons pas le fait, mais bien l'importance et la signification qu'on lui a attribuées.

Nous ferions remarquer d'abord que le sérum du lapin tue un certain nombre de microbes dans les cultures considérées, mais ne les tue jamais tous, car jamais il ne stérilise complètement les cultures. Or, pour assurer à lui seul l'immunité naturelle, il devrait tout tuer.

Nous ajouterions que ces microbes survivants (et que, pour cela, on considère comme plus résistants que les autres), se multiplient dans le sérum dit toxique, et que, par conséquent, dans l'organisme, la propriété microbicide du sérum ne saurait faire plus que retarder l'évolution de l'infection, mais elle ne suffirait pas à la supprimer.

Enfin, nous insisterions sur ce que le pouvoir microbicide du sérum ne se retrouve généralement pas, ou ne se retrouve que très amoindri dans le plasma sanguin, comme si la substance microbicide était libérée au moment de la coagulation du sang hors de l'organisme. Dès lors, si le pouvoir microbicide du sérum est insuffisant pour expliquer l'immunité naturelle, à fortiori, le pouvoir microbicide du plasma circulant ne le saurait-il faire.

De ces remarques il résulte que l'*action bactéricide des humeurs*, en supposant qu'on en puisse constater quelqu'une chez l'animal sur lequel on expérimente, et pour le microbe considéré, n'a d'autre signification que celle d'une curiosité : c'est un peu la cinquième roue du char, ou, si l'on veut, c'est la mouche du coche. N'en parlons donc plus.

CHAPITRE XIV

LES IMMUNISATIONS
ANTIMICROBIENNES OU VACCINATIONS

SOMMAIRE. — Maladies non récidivantes. — Variole et immunité antivariolique. — Variolisation. — Le cow-pox et la vaccine. — Le microbe du choléra des poules et son atténuation progressive par le vieillissement. — Non-récidive du choléra des poules : transformation du microbe pathogène en vaccin par le vieillissement. — Fixation de l'atténuation du microbe : création d'une variété ou d'une race. — Vaccinations fractionnées ; renforcement de l'immunité. — La bactéridie ne vieillit pas parce qu'elle produit des spores. — Bactéridies asporogènes. — Races bactéridiennes plus ou moins pathogènes. — Vaccins bactéridiens : les deux vaccins pasteuriens. — Etude sommaire de la rage ; la moelle rabique culture pure. — Inoculation sous-dure-mérienne ; virus fixe. — Les moelles desséchées ; immunisations par émulsions de ces moelles. — Ressemblances des vaccinations antirabique et anticholérique ; et dissemblances. — Vue d'ensemble sur l'étude de la rage et de l'immunisation antirabique. — La thérapeutique antirabique : ses succès et ses inévitables insuccès. — Pasteur.

Atténuation des microbes pathogènes par divers procédés : chaleur, passage dans l'organisme de certains animaux (rouget du porc, variole et vaccine). — Immunisation par microbes non atténués : injection en des régions déterminées de l'organisme, injection de quantités minimes de microbes pathogènes. — Immunisation par les cadavres microbiens (choléra, peste, fièvre typhoïde) ou par des produits microbiens. — Vaccinothérapies : principes et réalisations. — Les sérums antimicrobiens. — Immunité passive. — Comparaison des immunités antimicrobiennes active et passive : précocité et durée. — Immunisations mixtes. — Vaccination jennerienne et revaccination en période d'immunité partielle ou réduite. — Allergie. — Tuberculine, cutiréaction, ophtalmoréaction, réaction fébrile. — Malléine : action comparée chez le cheval normal et chez le cheval morveux.

On sait que certaines maladies, qui sont de celles qu'on range parmi les maladies infectieuses, *ne récidivent pas*, les unes pendant de nombreuses années, les autres pendant un temps plus ou

moins long : la variole, la scarlatine, la coqueluche ne récidivent pas ; la rougeole et la fièvre thyphoïde ne réapparaissent, chez les sujets où elles récidivent, que longtemps après la première attaque. Une première atteinte de ces maladies confère donc une immunité de plus ou moins longue durée, immunité acquise, dit-on, pour la distinguer de cette immunité naturelle, dont nous avons parlé. Notons que l'*immunité naturelle existe pour tous les individus d'une même espèce,* tandis que l'*immunité acquise ne se montre que chez les individus ayant subi la maladie* correspondante, car l'*immunité acquise est spécifique,* c'est-à-dire n'existe que pour la seule maladie subie et dont le sujet a pu guérir : le coquelucheux guéri est à l'abri de la coqueluche, mais non de la rougeole, ou de la fièvre typhoïde. Notons encore que la proposition énoncée : une première atteinte de la maladie infectieuse confère l'immunité, n'est pas générale ; elle ne vaut que pour certaines maladies infectieuses ; il est des maladies infectieuses qui ne confèrent pas l'immunité, au moins a un degré suffisant pour qu'on la puisse aisément reconnaître.

Ces remarquables constatations suggèrent l'idée de *réaliser l'immunité acquise,* pour le plus grand bien du sujet, dans des conditions ne présentant pas de danger pour lui. Or on avait remarqué que celui qui a eu une atteinte de *variole* peu grave, et dont il a guéri aisément, est immunisé, comme l'est celui qui a eu une maladie très grave, et dont il n'a triomphé que lentement et péniblement. Nous ne dirons pas que les deux sujets sont également bien immunisés : ce serait dépasser la mesure ; mais nous savons, tout au moins, que l'un et l'autre le sont suffisamment pour braver impunément l'infection variolique en s'exposant au contage, ou même en subissant l'inoculation de pus variolique. Cette observation suggère l'idée de *réaliser l'immunité acquise en imposant au sujet une maladie bénigne,* si la chose est possible.

Or, dans les *épidémies de variole,* il y a des cas graves et des cas légers : on peut se demander si l'inoculation du pus variolique (laquelle provoque la maladie chez le sujet inoculé) ne déterminerait pas une variété légère ou grave, selon qu'il aurait été prélevé chez un malade légèrement ou fortement atteint. C'est là une hypothèse, mais qui n'est pas absurde. Telles sont les considérations qui ont conduit à la pratique de *la variolisation.*

En réalisant ainsi chez un sujet une maladie variolique artificielle, on le mettait à l'abri pour de longues années de la maladie spontanée. La pratique de la variolisation a conduit à des résultats très favorables, mais de regrettables accidents se sont produits : des sujets sont morts de la variole inoculée, même quand le pus variolique ayant servi à l'inoculation avait été prélevé chez des sujets dont la maladie spontanée avait été très légère.

C'est là pour nous un avertissement qu'il y a, vis-à-vis des agents d'infection, des sensibilités individuelles que rien ne permet de dépister, sinon l'inoculation, et qu'il serait fort imprudent de ne pas prendre en considération.

L'observation médicale ayant établi que des sujets qui avaient subi une maladie pustuleuse de la vache, qu'on nomme *cow-pox ou vaccine,* étaient réfractaires à la variole, on songea (le cow-pox ne déterminant jamais chez l'homme qu'une maladie extrêmement bénigne) à vacciner l'homme pour l'immuniser contre la variole, et les tentatives furent couronnées du plus brillant succès. C'est la *vaccination jennérienne,* dont l'utilité n'est plus à démontrer.

Telles sont les deux premières méthodes ayant permis de conférer à l'homme une immunité solide vis-à-vis de la variole, la variolisation et la vaccination. Et, pendantde longues années, ces faits demeurèrent seuls, isolés.

A maintes reprises, nous avons parlé du *choléra des poules,* produit par l'invasion d'un coccus spécifique, chez la poule en particulier. En inoculant sous la peau, ou dans les muscles d'une poule neuve le microbe-témoin isolé et cultivé pur, nous avons provoqué l'apparition d'une maladie symptomatologiquement équivalente au choléra spontané des poules, maladie éminemment aiguë, évoluant en 24 h. p. ex.

Supposons qu'une culture sur bouillon de ce microbe ait été conservée au laboratoire pendant quelques semaines, de préférence à l'obscurité et en vase non scellé (pour que l'air puisse se renouveler à son contact), et qu'on l'inocule à une poule neuve : celle-ci présente une maladie, qui est bien le choléra des poules, car on note l'inappétence, la somnolence, le hérissement des plumes et la position en boule de l'animal, car on trouve son sang envahi par le coccus ; mais la maladie n'évolue pas en 24 h., comme elle le faisait quand on inocule une culture récente ; elle traîne quelques jours au moins avant de provoquer la mort.

Inoculons une culture plus vieille, remontant à 6 ou 8 semaines, la poule est encore malade, mais plus légèrement cette fois : mieux vaudrait parler de malaise que de maladie ; la guérison est d'ailleurs assurée. — Tardons plus encore à inoculer la culture ; attendons 3 ou 4 mois, le microbe est toujours vivant et cultivable, mais il ne manifeste plus aucune action pathogène.

Ainsi donc, en laissant *vieillir* une culture très active

du microbe du choléra des poules, nous avons pu engendrer une maladie, dont la gravité a été en s'atténuant progressivement et régulièrement jusqu'à ne plus se produire. Nous avons pu notamment provoquer à coup sûr (il suffirait de laisser vieillir la culture tant de jours dans des conditions de température et d'aération bien définies) *des maladies bénignes, dont la poule guérissait sans exception*

Si, quelque temps après la guérison, on injecte à la poule ayant eu un choléra très net une culture fraîche du microbe (de celles qui tuent en 24 h.), on constate qu'elle demeure en pleine et entière santé. *La première crise de choléra* surmontée par la poule lui *a conféré une solide immunité* contre le microbe le plus actif dont nous disposons. N'est-ce pas là la répétition de la variolisation ou de la vaccination jennerienne ?

Pour rappeler cette analogie, *on a désigné sous le nom de vaccin le microbe des cultures vieillies, celui qui provoque la maladie guérissable et immunisante.* Le vaccin, ou plus généralement un vaccin, est donc *un microbe pathogène* peu actif, disons *atténué,* apte à provoquer une maladie bénigne conférant l'immunité.

On a souvent et malheureusement appliqué cette dénomination de vaccins à divers produits, dont quelques-uns ne renferment plus d'éléments vivants, bacilles morts, ou liquides filtrés de cultures, aptes à modifier la sensibilité d'un sujet pour une infection. Il y a là une regrettable faute, car c'est introduire la confusion en des questions où elle est très dangereuse. *Nous conserverons strictement le mot vaccins pour désigner les microbes atténués et vivants, et le mot vaccinations pour désigner les préparations d'immunisation par inoculation de vaccins.*

Une culture de microbe du choléra des poules s'atténue d'autant plus qu'elle vieillit davantage ; inoculée à une certaine date, elle engendre une maladie d'une certaine gravité et d'une certaine durée. Imaginons qu'à cette même date, nous réservions un peu de la culture pour faire un ensemencement dans un bouillon neuf et que nous fassions dès lors une série de cultures, en ensemençant chaque jour un peu de la culture faite la veille, en un bouillon neuf. Au bout de 30 jours, en inoculant la

30e culture, nous provoquons, chez la poule neuve, la même maladie exactement que nous provoquions un mois auparavant avec la culture vieillie, dont nous sommes partis pour faire nos ensemencements.

Donc, durant ces passages successifs quotidiens en milieu neuf, le microbe s'est conservé identique à lui-même ; il n'a pas vieilli, peut-on dire. Il n'a pas rajeuni non plus, puisqu'il n'est pas plus pathogène que le microbe vieilli, dont il provient ; il s'est immobilisé, nous dirions volontiers il s'est figé ou cristallisé dans l'état où il se trouvait. En vérité, il représente une *variété,* telle qu'on la définit en zoologie ou en botanique : il appartient bien à l'espèce microbe du choléra des poules, mais il diffère du choléra des poules normal par un caractère tout au moins (son pouvoir pathogène).

On est ainsi amené à parler de *races de vaccins* ; et il s'agit bien de races, car, en prenant certains soins et certaines précautions, on parvient à les conserver intégralement avec tous leurs caractères. Ce ne sont pas ici d'ailleurs des caractères morphologiques, ce sont des caractères biologiques, et qui sont plus délicats assurément que ne sauraient l'être les premiers.

Injectons à une poule neuve une très vieille culture du microbe du choléra des poules, ne présentant plus qu'un pouvoir pathogène infime : à peine la poule a-t-elle esquissé un vague malaise. Si quelque temps après cette première injection, nous inoculons à cette poule un microbe très jeune, des plus actifs que nous possédions, la poule prend un choléra mortel. La vaccination a été nulle, ou tout au moins insuffisante.

Mais supposons qu'à la poule ayant reçu la première injection, nous inoculions, quelque temps après, une culture vieille de 2 à 3 semaines, de celles qui tuent encore la poule neuve après lui avoir imposé une maladie prolongée, nous constatons que la poule résiste fort bien à cette seconde inoculation, à la suite de laquelle ne se développe qu'une maladie très bénigne. La guérison étant acquise, nous faisons à cette poule une 3e injection, en employant cette fois le microbe le plus puissant : la poule supporte en général cette dernière inoculation sans présenter d'accident, ou si exceptionnellement elle en présente, ils sont extrêmement bénins.

Nous traduirons ces faits en disant que nous avons *fractionné l'immunisation.* En inoculant d'abord un vac-

cin très faible, nous avons conféré une immunité modérée, puis, en inoculant un second vaccin plus puissant, *nous avons accru ou renforcé cette immunité au point de la rendre absolue.*

Nous serions arrivés au même résultat en employant un seul vaccin convenablement choisi, de ceux qui provoquent une maladie grave, mais non mortelle. En fractionnant la préparation, nous avons réussi à obtenir l'immunité absolue sans jamais provoquer de maladie grave : les deux affections vaccinales ont été très bénignes, à peine indiquées, et pourtant le résultat obtenu a été parfait. N'est-ce pas là un renseignement précieux, et qui devra nous guider dans la pratique des vaccinations à faire éventuellement chez l'homme ?

Ces résultats acquis avec le microbe du choléra des poules, il fallait tenter de généraliser. Ne pourrait-on pas obtenir des vaccins équivalents à ceux dont nous venons de parler en laissant vieillir des cultures de divers microbes, de bactéridies, de staphylocoques, de streptocoques, etc. ?

Si on dispose d'*une culture de bactéridie très pathogène pour le lapin,* et si on conserve cette culture plus ou moins longtemps à la température du laboratoire, on constate que, contrairement au microbe du choléra des poules, elle conserve sa nocivité intégralement.

Ce résultat, qu'on serait tenté de considérer comme regrettable, mieux vaudrait dire désastreux, est dû à ce que *la bactéridie est capable de produire des spores,* c'est-à-dire de prendre une *forme d'attente ou de résistance,* jusqu'à ce que soient réalisées des conditions favorables à la prospérité bactéridienne.

Tout ce que nous savons sur les *spores microbiennes* conduit à les comparer aux *graines des végétaux,* dont la vie est latente, dont la résistance aux intempéries est considérable, et qui, durant cette vie latente, ne s'altèrent pas, ne se modifient pas, ne subissent ni outrages, ni influences et se montrent toujours identiques à elles-mêmes, quel que soit le moment où, sortant de leur immobilité biologique, elles reprennent leur activité et leur fragilité aussi, en reprenant la forme végétative. La graine, en particulier, ne vieillit pas, et qu'elle soit demeurée graine quelques semaines, ou quelques

années, elle donne, quand la température et l'humidité du milieu la réveillent de sa torpeur, le même végétal, possédant les mêmes propriétés (toutes les propriétés, sans en excepter aucune) que celui dont elle provient. Ainsi en est-il de la spore microbienne : elle fixe le microbe, dont elle représente une phase évolutive, dans l'état exact où il se trouvait au moment de sa formation : notamment, elle fixe et retient immuable sa virulence, c'est-à-dire son activité pathogène.

Le microbe du choléra des poules peut vieillir, parce qu'il ne produit pas de spore ; la bactéridie ne saurait vieillir, parce qu'elle forme des spores. On peut imaginer pourtant que si l'on parvenait à empêcher la bactéridie de produire des spores, on constaterait peut-être son vieillissement, se traduisant par une diminution d'abord, par une suppression ensuite de sa capacité d'engendrer le charbon.

Or on a pu obtenir des *cultures bactéridiennes asporogènes* (ne produisant pas de spores) par divers artifices ; on y réussit en ajoutant p. ex. à la culture de petites quantités d'antiseptiques (phénol, etc.), ou mieux encore en maintenant la culture à 42°,5.

Une culture bactéridienne maintenue à 42°,5 est stérile au bout d'un mois : à ce moment, tous les éléments qui la peuplaient sont morts. A partir du 8e jour, bien qu'elle renferme des bactéries vivantes (elles se multiplient rapidement quand on les introduit dans du bouillon), la culture n'est plus pathogène pour tous les animaux de laboratoire. Durant les 8 premiers jours, elle est pathogène, mais d'autant moins qu'on l'examine plus tardivement : après quelques jours, elle n'est plus pathogène pour le lapin, tout en l'étant encore pour le cobaye et la souris ; après quelques jours encore, elle n'est plus pathogène pour le cobaye, tout en l'étant encore pour la souris ; enfin, au 8e jour, elle cesse de produire des accidents chez la souris, qui est l'animal le plus sensible vis-à-vis de la bactéridie que nous connaissions.

Si, durant cette période d'amoindrissement progressif de son activité pathogène, on prélève un peu de la culture pour l'ensemencer en un milieu convenable maintenu au voisinage de 37°, on obtient une culture abondante, qui présente et conserve (dans les cultures successives qu'on en peut faire dériver) le pouvoir pathogène, tel qu'il existait en la culture d'où l'on est parti (culture à 42°,5) au moment précis où l'on a fait le prélèvement. On a donc, par la culture à 42°,5, créé des *races successives de bactéridies*, ayant chacune son pouvoir pathogène propre, et qui demeure stable, ou fixe, dans

toutes les cultures filles se développant aux températures favorables à la bactéridie.

Voici donc renouvelés et avec les mêmes résultats les essais faits avec le microbe du choléra des poules plus ou moins atténué. On peut légitimement se demander si ces bactéridies modifiées et pathologiquement amoindries ne constituent pas des *vaccins,* c'est-à-dire des microbes capables, en provoquant chez l'animal une maladie bénigne, de créer l'immunité. L'expérience justifie ces prévisions.

Si, dans la série des microbes atténués que nous avons considérés, nous choisissons celui qui provoque chez le lapin une maladie non mortelle, et si nous l'inoculons à un lapin, nous pouvons mettre en évidence chez lui, une fois la guérison parachevée, un état d'immunité anticharbonneuse très nette, en lui injectant (10 à 15 jours après la première injection p. ex.) une culture bactéridienne capable de tuer un lapin neuf, auquel on l'injecterait à la même dose et dans les mêmes conditions : l'animal préparé survit sans présenter généralement le moindre accident.

Ici encore, on a avantage à employer la méthode d'immunisation fractionnée (en fait, c'est elle qu'on adopte pour vacciner contre le charbon les animaux domestiques). On injecte d'abord un vaccin très faible, le premier vaccin bactéridien (ou 1er *vaccin pasteurien*) : ce sont des bactéridies qui tuent la souris, mais qui ne tuent ni le cobaye, ni le lapin. L'animal inoculé, mouton ou lapin p. ex., survit sans avoir présenté d'accidents sérieux : il est immunisé, parce que (8 à 10 jours plus tard) on ne provoque chez lui que de minimes accidents en lui injectant une bactéridie atténuée, capable de provoquer des accidents graves chez l'animal neuf ; mais son immunité est partielle, car il ne supporterait pas, sans en mourir, l'inoculation d'une bactéridie très pathogène. De 8 à 15 jours après la première injection préparatoire, on inocule le 2e *vaccin bactéridien ou pasteurien* : ce sont des bactéridies qui tuent la souris et le cobaye, mais qui ne tuent pas le lapin neuf : l'animal inoculé n'est pas malade. Quelques jours plus tard, il supporte, sans présenter d'accidents, l'inoculation de la bactéridie la plus pathogène dont on puisse disposer. La seconde inoculation préparatoire a donc renforcé l'immunité produite par la première. Il est évident qu'il y a avantage (quand aucune raison n'impose l'obligation de réaliser l'immunité le plus vite possible) à substituer la double inoculation vaccinante à l'inoculation unique : cette dernière engendre toujours des accidents au moins sérieux, tandis que l'immunisation fractionnée peut se faire sans que l'animal soit jamais véritablement malade.

Pour généraliser plus encore les résultats obtenus, nous allons étudier un troisième cas, *celui de la rage et de l'immunisation antirabique*. Cette étude, comme les précédentes, nous permettra d'acquérir de très importantes connaissances biologiques.

La *rage* est une maladie qui s'observe chez le chien, et chez les animaux et l'homme mordus par les chiens enragés. Expérimentalement, on la provoque chez le chien, le chat, le lapin, etc., en inoculant sous la peau de la salive de chien enragé. Il est au moins vraisemblable que cette salive renferme le microbe générateur de la rage (nous disons le microbe, car tout se passe comme si l'agent provoquant la rage était un microbe ; mais toutes les tentatives faites pour l'y découvrir et l'en retirer ont été vaines ; et cet insuccès ne facilite pas le problème de l'immunisation antirabique).

La salive inoculée détermine la rage ; mais la salive de l'animal enragé n'est pas la seule matière capable de la provoquer : les accidents présentés durant l'évolution de la maladie rabique traduisent des troubles du système nerveux central, et l'idée se présente que l'agent déterminant la rage pourrait bien se trouver dans les centres nerveux et notamment dans le bulbe, en raison de ces spasmes du pharynx (les nerfs pharyngiens sont d'origine bulbaire), qui sont l'un des traits caractéristiques de la rage. Cette précision se justifie pleinement. Si un chien ou un lapin vient de mourir enragé, et si, retirant les centres nerveux, notamment le bulbe et la moelle, on en fait une émulsion légère dans l'eau salée, ou peut provoquer la rage chez l'animal auquel on injecte sous la peau un peu de cette émulsion. Les centres nerveux et spécialement le bulbe sont, parmi les tissus fournis par le chien ou le lapin mort enragé, ceux qui permettent d'obtenir la rage expérimentale le plus sûrement et rapidement.

Les *centres nerveux de l'animal enragé* peuvent donc être assimilés à une *culture microbienne* ; et, comme les tissus d'un animal normal sont stériles, on est conduit à considérer que les centres nerveux de l'animal enragé représentent une culture pure du microbe de la rage. Cette culture est faite dans l'organisme au lieu d'être faite in vitro ; elle est faite sur tissu nerveux au lieu d'être faite sur bouillon : qu'importe ? L'essentiel est de posséder cette culture pure et de pouvoir l'inoculer pure : il suffit, pour y réussir, de prélever aseptiquement les centres nerveux, de les broyer dans l'eau salée stérile, en évitant de souiller la liqueur de quelque microbe ; et cela ne présente pas de difficulté considérable.

Cette culture pure de rage ne saurait d'ailleurs nous satisfaire entièrement quand elle provient d'un chien accidentellement enragé

(rage des rues) pour deux raisons : d'abord son inoculation détermine bien la rage en général chez le chien et le lapin, mais seulement après une incubation de plusieurs semaines, ce qui est défavorable pour expérimenter ; ensuite parce que tous les animaux inoculés sous la peau (comme on le faisait au début des études) ne contractent pas la maladie. On réalisa un premier progrès en pratiquant l'*inoculation de l'émulsion de moelle rabique* dans la masse cérébrale, ou plus volontiers *sous la dure-mère crânienne* (après trépanation) : tous les animaux inoculés contractaient la rage, et (pour les animaux d'une même espèce, l'émulsion étant la même), après un temps très sensiblement le même. On réalisa un second progrès en créant le virus fixe. Une émulsion de moelle rabique étant inoculée sous la dure-mère crânienne d'un chien ou d'un lapin, la rage évolue jusqu'à la mort, en 15 jours p. ex. Uu second lapin inoculé, dans les mêmes conditions, avec la moelle de celui-ci meurt plus tôt que le premier, et ainsi, en passant de lapin à lapin, on reconnaît que la mort est de plus en plus précoce : ce qui est défavorable pour l'étude systématique et expérimentale de la rage. Pour faire une étude utile, il faut disposer d'un produit possédant une action pathogène déterminée, fixe, comme c'était le cas quand nous utilisions les cultures du microbe du choléra des poules ou de la bactéridie, dont le pouvoir pathogène était rigoureusement constant. Or on a réussi à fixer aussi l'agent rabique à un taux pathogène constant. En multipliant les inoculations successives de lapin à lapin, ou de chien à chien, un moment arrive où la mort se produit toujours à la même date, au bout de 9 jours pour le lapin, sans avancer ou sans retarder si on poursuit la série des inoculations. L'agent pathogène présentant ce pouvoir maximum et constant est appelé *virus fixe*.

Nous voici en mesure de provoquer la rage à coup sûr et de la voir évoluer en un temps bien déterminé ; il suffit d'injecter le virus fixe sous la dure-mère.

Serait-il possible de faire vieillir l'agent rabique comme vieillissait le microbe du choléra des poules ? Prélevons aseptiquement la moelle et le bulbe d'un lapin qui vient de succomber à la rage provoquée par inoculation sous-dure-mérienne de virus fixe ; suspendons-les dans un flacon disposé de façon que l'air puisse s'y renouveler et dans lequel on a placé des morceaux de potasse caustique pour assurer le plus possible la sécheresse de l'atmosphère, dans laquelle seront conservés la moelle et le bulbe à 20° (l'expérience a montré que ce procédé fournit les produits les plus intéressants). Une moelle rabique ainsi conservée perd totalement son pouvoir pathogène en 2 semaines : son émulsion dans l'eau salée injectée sous la dure-mère crânienne du lapin ne provoque aucun accident même très tardif. Une moelle qui n'aurait été conservée que 5 jours serait encore pathogène pour le

lapin en injection sous-dure-mérienne, mais les accidents ne se manifesteraient qu'après une période d'incubation fort longue (16 jours environ) et ils évolueraient lentement jusqu'à la mort ; tandis que la moelle tout à fait fraîche eût déterminé la mort en 9 jours. D'ailleurs des moelles rabiques prises à des moments divers après la mort des lapins qui les ont fournies sont plus ou moins pathogènes selon qu'on les inocule peu de temps après la prise, ou plus tardivement. Si bien qu'on peut aisément disposer de moelles plus ou moins actives et capables de produire les accidents rabiques et la mort à la date qui plaira.

On peut donc songer à pratiquer l'immunisation du chien ou du lapin à l'aide de ces moelles plus ou moins longuement conservées dans les flacons secs, comme nous avons fait avec les deux vaccins bactéridiens, p. ex. Une remarque pourtant : la poule peut présenter un choléra des poules bénin et guérissable ; le lapin, le mouton peuvent présenter un charbon bénin et guérissable, grâce à quoi nous pouvons transmettre à ces animaux une maladie légère, guérissable, créant l'immunité, ou tout au moins un certain degré d'immunité. Mais on n'a pas observé de cas de rage symptomatologiquement reconnue qui ait guéri : la maladie déclarée est toujours mortelle ; une très grande prudence s'impose dès lors dans la tentative d'immunisation que nous allons faire ; et cette prudence, qui va nous amener à n'employer pour le début de la préparation que des moelles anciennes, de celles qui ne provoquent aucun accident, nous imposera l'obligation de renforcer longuement la très légère immunité que nous pouvons espérer engendrer ici.

Sous la peau du lapin ou du chien, injectons d'abord une émulsion de moelle rabique conservée depuis 16 jours, le lendemain injectons une émulsion de moelle conservée depuis 15 jours et ainsi, de jour en jour, en utilisant chaque fois une moelle conservée depuis un jour de moins que celle dont on a usé pour la précédente injection, jusqu'à ce que, le 17e jour, nous injections une émulsion de moelle qu'on vient d'extraire du corps de l'animal mort de la rage. Le fait que cette dernière injection peut être faite, non seulement sous la peau mais encore sous la dure-mère, sans provoquer le moindre accident prouve que le lapin ou le chien ont été immunisés par la préparation, puisqu'ils supportent, sans en souffrir, une inoculation qui eût tué le lapin neuf en 9 jours.

Quand nous avions atténué le microbe du choléra des poules ou la bactéridie, nous pouvions les conserver pathologiquement invariables ou à très peu près, les fixer, dit-on volontiers, en cultivant en bouillon neuf et en réensemençant quotidiennement la culture atténuée. On arrive à un résultat moins parfait, mais pratiquement équivalent, en procédant comme suit avec les moelles rabiques : la moelle, conservée

à l'air sec pendant un certain nombre de jours, est immergée dans la glycérine ; elle y garde son pouvoir pathogène, non pas sans doute indéfiniment immuable, mais tout au moins très peu atténué pendant des semaines.

Pratiquement, on suspend la moelle rabique dans le flacon à air sec, et chaque jour on en coupe un petit tronçon, qu'on immerge dans la glycérine, de façon à obtenir, en partant d'une seule moelle, toute la gamme des pouvoirs pathogènes.

Ne semble-t-il pas que nous ayons répété pour la rage ce que nous avions fait pour le choléra des poules et pour le charbon. En tout cas, les idées qui ont été indiquées en cet exposé ont présidé à l'élaboration de la méthode d'immunisation, dont nous venons de tracer le schéma. Et pourtant si l'on veut bien noter attentivement les détails, les différences apparaissent.

Le microbe de la rage, avons-nous dit, semble vieillir dans la moelle conservée. Le mot *vieillissement* convient-il exactement ici ? Les cultures du microbe du choléra des poules et de la bactéridie étaient conservées en vase clos, autant que possible à l'abri des influences diverses qui pourraient provenir du milieu ambiant : des changements de leur puissance pathogène se sont produits ; nous les avons enregistrés sous le terme vieillissement ; aucun agent extérieur ne nous a paru indispensable à leur réalisation. Dans le cas des moelles rabiques, on a démontré que la dessiccation est un élément important de l'atténuation des moelles, et plus encore que la dessiccation l'action exercée par l'oxygène de l'air (l'atténuation ne se produit que beaucoup plus lentement dans le vide). Il y aurait vraiment quelque imprudence à conserver, dans ce cas, le mot vieillissement ; avec raison, on emploie le mot atténuation. Il n'est pas certain du tout que le mécanisme de l'atténuation rabique soit le même que celui qui intervient dans l'atténuation bactéridienne. Mais l'hypothèse du veillissement qui s'était présentée tout d'abord a été un guide sûr, une inspiratrice d'expériences qui ont amené au résultat espéré : c'est là tout ce qu'on peut légitimement demander à une hypothèse.

Une autre différence, que nous avons notée au passage, mais qu'il faut souligner, c'est le fait que les immunisations anticholérique et antibactéridienne comportaient l'inoculation de vaccins aptes à provoquer une maladie légère, tandis qu'en immunisation antirabique, aucune des inoculations pratiquées n'a déterminé d'accidents, même minimes. Cela n'établit pas une distinction absolue entre les unes et l'autre, parce qu'en recourant au procédé de la double immunisation pour le choléra des poules et pour le charbon, nous avons diminué considérablement l'intensité de la maladie vaccinale, et nous l'aurions plus atténuée encore, si nous avions multiplié les injections prépara-

toires, en graduant de façon plus serrée leur puissance pathogène. Toutefois la méthode d'immunisation antirabique met en évidence avec une netteté si particulièrement remarquable cette possibilité d'immuniser, sans qu'il ait été nécessaire de provoquer une maladie même légère, qu'on peut dire que c'est cette méthode qui a révélé cette importante possibilité..

Peut-être n'est-il pas inutile d'insister sur l'admirable maîtrise, avec laquelle ont été conduites les études sur la rage. Une maladie transmissible par morsure est là ; nous imaginons qu'elle est microbienne, mais toutes les recherches tentées pour isoler le microbe, et même pour l'apercevoir, ont échoué. La maladie, transmise à l'animal neuf par inoculation de la salive de l'animal enragé, est la plus étonnamment irrégulière qui soit : tantôt elle ne se réalise pas même après une longue attente ; tantôt elle se produit ; mais, ici, ses premiers symptômes se montrent après 2 à 3 sem., là ils n'apparaissent qu'après 3 à 4 mois ; ici, la mort suit de près l'éclosion du mal, là elle est notablement plus tardive. Peut-on raisonnablement songer à soumettre, dans de telles conditions, la rage à l'étude expérimentale ? Nous avons vu les étapes successives de cette recherche : comment on a préparé, dans les moelles rabiques, des cultures pures du germe de la maladie, malgré qu'on ne le connaisse pas, comment on a modifié son pouvoir pathogène, en réalisant une série de passages d'animal à animal jusqu'à obtenir le virus fixe ; comment, à l'aide de ce virus fixe, on a pu, par inoculation sous-dure-mérienne, provoquer une maladie toujours la même quant à son début, à son évolution et à sa terminaison ; comment, en agissant méthodiquement sur les moelles rabiques par la dessiccation au contact de l'air, on a pu atténuer le virus fixe autant qu'on le peut désirer et créer ainsi une série de vaccins, dont l'inoculation successive à un animal neuf, en commençant par les plus atténués, pour finir par le virus fixe, on a créé une solide immunité capable de protéger l'animal préparé contre l'inoculation du virus fixe, pratiquée dans les conditions qui la rendent particulièrement grave et plus rapidement mortelle.

Ce n'est pas tout. Quand l'homme ou un animal est mordu par un chien enragé, la maladie, si elle se déclare, n'apparaît qu'assez tardivement ; l'incubation en est d'ailleurs de durée infiniment variable : chez l'homme, la rage n'éclate généralement pas avant 15 jours, mais elle peut être différée jusqu'à 60 jours et même beaucoup plus. Or l'immunisation, pour s'établir très puissante, ne demande que 15 à 18 jours. Si donc on procède à l'immunisation du sujet mordu aussitôt après la morsure, l'immunisation sera réalisée (en supposant que la morsure ne modifie pas, à ce point de vue, l'homme ou l'animal) avant que la rage ait pu éclater. Ne pourrait-

on espérer que, dans de telles conditions, l'immunité acquise durant la période d'incubation soit capable de supprimer le mal, comme elle l'eût supprimé si elle avait été réalisée avant la morsure? L'expérience seule permet de répondre à cette question, mais déjà, avant de l'entreprendre, nous connaissions des faits relatifs à la vaccine et à la variole qui donnaient presque la note optimiste : la variole a une incubation de 10 jours environ ; or si la vaccine ne protège pas contre la variole quand les deux contages sont simultanés, il suffit de pratiquer l'inoculation vaccinale 4 à 5 jours avant l'inoculation variolique pour empêcher la variole d'éclater.

Nous savons aujourd'hui, grâce aux statistiques des instituts antirabiques, que le traitement dont nous avons indiqué le principe est efficace, sinon toujours, au moins très souvent. Nous en avons maintes preuves et p. ex. les suivantes : le nombre des morts par rage a considérablement diminué depuis l'adoption à peu près générale du traitement ; en particulier, les hommes qui ont subi des morsures graves et multiples, surtout des morsures de la face, et pour lesquels on notait un pourcentage considérable de cas de rage, sont aujourd'hui beaucoup moins souvent victimes du mal qu'ils ne l'étaient jadis. Et comme ces résultats ne portent pas seulement sur une région limitée et sur un petit nombre d'années, mais sur une étendue considérable de pays et sur un quart de siècle, on ne saurait attribuer la diminution de la mortalité rabique à quelque atténuation locale et temporaire de la maladie.

Quelques savants, assurément mal informés de la nature du traitement antirabique, et de ce qu'on est en droit de lui demander, ont insisté sur ce que le traitement de la rage est sans valeur, parce qu'il est des sujets qui meurent de la rage non seulement en cours de traitement, mais encore après que le traitement a été parachevé, ce qui est exact. Mais la conclusion qu'on en tire est inadmissible : de ce que le traitement n'est pas toujours efficace, cela ne prouve pas qu'il ne le soit jamais. Faut-il d'ailleurs manifester grande surprise qu'il comporte des insuccès, quand on sait que deux processus évoluent simultanément dans l'organisme, qui opposent leurs effets : il y a entre eux lutte de vitesse, et aussi, ne l'oublions pas, lutte de puissance. Si l'infection rabique est d'allure accélérée, elle prévient l'immunisation en éclatant prématurément ; si l'infection se développe de façon particulièrement puissante, elle peut ne pas se laisser neutraliser par l'immunisation.

Bref, de ce que le procédé de traitement antirabique comporte et surtout comportait à l'origine maints insuccès, il ne faut pas conclure à son inefficacité, car un insuccès ne supprime pas les incontestables succès d'à côté. Ajoutons que des perfectionnements successifs apportés au procédé primitif ont fixé les règles d'une meilleure

technique, grâce à laquelle le nombre des insuccès diminue de plus en plus : il est aujourd'hui si faible que personne ne peut contester de bonne foi sa valeur.

Pour la troisième fois, malgré que je me sois promis de ne pas citer d'auteur ou d'inventeur, je prononcerai un nom, toujours le même, celui de *Pasteur*. C'est à lui que nous devons toutes les notions qui viennent d'être résumées; c'est à lui que nous devons les merveilleuses découvertes qui ont enthousiasmé au delà de toute expression les hommes de ma génération; c'est à lui que nous devons la joie inoubliable qui fut la nôtre, quand nous comprîmes que, là où nos devanciers avaient dû s'avouer vaincus, il nous serait possible, sur bien des terrains, d'arrêter la maladie et de faire reculer la mort. *Jeunes gens qui me lisez, ne prononcez jamais qu'avec respect le nom de Pasteur et honorez sa mémoire.*

Les préparations d'immunisation ci-dessus signalées mettent en œuvre des microbes dont le pouvoir pathogène a été atténué (*microbes atténués*). L'atténuation, dans les procédés pasteuriens est obtenue par le *vieillissement et la conservation dans l'air sec.* On a pu obtenir le même résultat par maints autres procédés. Il suffira d'en citer quelques exemples.

On peut atténuer certains microbes par l'action d'une température convenablement choisie, suffisante pour les modifier, insuffisante pour les tuer. — Une culture du *microbe du charbon symptomatique* en bouillon, maintenue 2 semaines à 43-44°, constitue un vaccin ,permettant d'immuniser les bovidés contre le microbe le plus actif. — Si on cultive sur bouillon à 39° le *vibrion cholérique* à action pathogène considérable qu'on désigne sous le nom de virus fixe, et si tous les 2 ou 3; jours on procède à un réensemencement, toutes les cultures se faisant à 39°, on obtient un microbe très atténué, qui constitue un vaccin : en l'inoculant à un cobaye, on lui confère une immunité, qu'on vérifie en inoculant le virus fixe, quelques 10 à 15 jours plus tard : aucun accident ne se produit.

On atténue parfois certains microbes en les faisant passer par l'organisme d'animaux convenablement choisis. — Quand on injecte au lapin une culture du *microbe du rouget du porc,* on détermine une maladie

mortelle en 5 à 6 jours. Si on prélève, chez le lapin ainsi tué, un peu de sang, ou du tissu de rate, et si on l'injecte à un second lapin, et ainsi de suite, on obtient un microbe qui s'atténue progressivement, au moins pour le porc, qui s'atténue assez pour devenir vaccin, et, en provoquant chez lui une maladie bénigne et guérissable, lui confère l'immunité contre le microbe normal. L'atténuation du microbe par passage de lapin à lapin étant progressive, on peut disposer de deux vaccins : un premier vaccin très peu pathogène pour le porc, et un second vaccin plus pathogène sans doute, mais qui ne détermine que des accidents très légers s'il est inoculé quelque temps après le premier, et qui conduit à une forte immunité contre le microbe normal.

Ce procédé est l'image de ce qui se passe dans la vaccination antivariolique. Le *vaccin jennerien* ou *cow-pox* n'est en vérité (c'est l'opinion de maints auteurs, et elle semble légitime) que la *variole atténuée* par passages sur la vache. Prélevons chez l'homme du pus variolique, appliquons-le sur la peau légèrement scarifiée d'une génisse : il se développe une éruption, qui, transportée à plusieurs reprises de génisse, à génisse prend peu à peu les caractères du cow-pox, et qui, reportée chez l'homme, détermine la vaccine et non la variole. Le microbe de la variole, par passages sur génisses, s'est atténué pour l'homme et ne lui impose plus qu'une maladie très bénigne, l'immunisant contre la variole grave.

Ces procédés d'immunisation par l'emploi de microbes atténués ne réussissent toutefois pas, quel que soit le microbe considéré : dans bien des cas, pour immuniser, il faut recourir à d'autres artifices.

On peut parfois, et au moins pour quelques microbes pathogènes, *immuniser avec le microbe normal, non atténué* : et c'est là, somme toute, l'équivalent de la *variolisation*. Tantôt il suffira p. ex. d'*injecter un microbe en une région déterminée de l'organisme,* que, par tâtonnements, on aura reconnue apte à neutraliser l'effet d'un microbe qui, injecté en quelque autre région du corps, eût provoqué une maladie grave et la mort. Tantôt il suffira d'*inoculer* de tel autre microbe *une très minime quantité,* alors qu'une quantité plus grande eût tué le sujet.

Si on inocule une culture du *microbe de la péripneumonie des bovidés,* ou le liquide retiré du poumon d'un animal souffrant de cette maladie, sous la peau du tronc, chez la vache, la maladie éclate très

grave et généralement mortelle. Si on fait l'inoculation sous la peau de l'extrémité de la queue, chez la vache, il se produit simplement un œdème local ; l'animal guérit rapidement et l'immunité est réalisée contre l'inoculation faite au niveau des flancs.

Si on inocule le *vibrion cholérique* dans le péritoine du cobaye ou du lapin, il se produit une maladie mortelle ; si on l'inocule sous la peau, l'animal ne présente pas d'accidents, et est par là immunisé contre l'injection intrapéritonéale du même microbe, pratiquée quelque temps après. Le vibrion cholérique injecté sous la peau de l'homme n'est pas pathogène ; il confère au sujet une immunité au moins légère contre le choléra.

En présence de ces résultats, on peut se demander si la variolisation, autrefois pratiquée pour immuniser contre la variole, ne doit pas son innocuité au moins coutumière à ce que l'inoculation est faite sous la peau, tandis que l'infection variolique semble résulter de l'apport des microbes correspondants dans les poumons, ou tout au moins dans les voies respiratoires.

Pour immuniser le lapin ou le cobaye contre la *septicémie typhique*, qu'engendre chez eux le bacille typhique injecté en quantité assez considérable, il suffit d'inoculer une très petite quantité de la culture : quelques jours plus tard, l'inoculation surabondante de bacilles typhiques, qui tue l'animal neuf, est inoffensive pour l'animal préparé.

Mais ces procédés, comme les précédents, ne sont pas généraux : ils conviennent ici, ils ne réussissent pas là. Aussi a-t-on dû chercher dans d'autres directions encore pour étendre le champ des vaccinations ou immunisations.

On a eu recours à des *cadavres microbiens*, c'est-à-dire à des microbes tués par la chaleur, ou quelque autre moyen, et on a obtenu assez souvent, sinon toujours, d'excellents résultats. Des immunisations ont été réalisées par injection de corps de microbes tués vis-à-vis du charbon symptomatique, du hog-choléra, de l'infection due au vibrion avicide, de l'infection typhique des animaux de laboratoire, etc. Des applications importantes en ont été faites à l'homme pour l'immuniser contre la peste, la fièvre typhoïde, les affections paratyphiques, le choléra.

Inoculons à l'homme une culture de *vibrions cholériques* sur gélose, diluée dans l'eau salée (2 mgr. de culture pour 1 c. c. d'eau salée p. ex.) et chauffée 1 h. à 58° ; renouvelons l'injection, en doublant

la quantité, quelques jours plus tard. Ces injections provoquent des accidents très nets, mais qui ne sont pas graves et disparaissent en 2 à 3 jours, laissant le sujet immunisé fortement.

On vaccine contre la peste à l'aide de *bacilles pesteux* cultivés sur bouillon ou gélose, qu'on tue par chauffage de 1 à 2 h. à 65° : on pratique une première injection à dose minime, suivie, à 10 jours d'intervalle, d'une seconde injection semblable plus abondante.

On vaccine contre la fièvre typhoïde en inoculant à 3 ou 4 reprises, à 8 jours d'intervalle, soit des *bacilles typhiques* (cultures sur bouillon ou gélose) tués par chauffage d'une ou deux heures à 56° (pour certains auteurs) ou à 60° (pour d'autres), soit des bacilles typhiques (mêmes cultures) tués par l'éther et débarrassés d'éther par chauffage à douce température.

On vaccine encore par la même méthode contre les infections paratyphiques, et, en mélangeant les microbes typhiques et paratyphiques, contre ces diverses infections tout à la fois.

Parfois on substitue aux microbes tués des *extraits aqueux,* qu'on a préparés en faisant longuement macérer les microbes dans l'eau salée, et en séparant par filtration la liqueur de macération. Parfois on soumet les microbes à diverses manipulations avant de les faire périr (p. ex. dessiccation, broyage, addition de sel et finalement addition d'eau; ou congélation par l'air liquide, trituration et macération, etc.).

Peut-être convient-il d'ajouter que, si les injections de microbes tués assurent plus de sécurité dans l'immunisation, le degré de l'immunité conférée est toujours moindre que celui de l'immunité qui succède à l'inoculation de microbes vivants.

Notons expressément qu'aucune des méthodes, que nous venons de présenter sommairement, n'est universellement bonne. Dans chaque cas particulier, une étude longue et minutieuse, conduite avec patience, permet seule de reconnaître quel est le procédé le plus efficace pour arriver à la plus forte immunité : tout est question de tâtonnements et d'empirisme. C'est l'observation encore qui permet de savoir si une seule injection suffit à assurer une immunité efficace ou s'il faut la renouveler, et combien de fois il faut la répéter. C'est l'observation enfin qui permet de

savoir si la voie d'inoculation des produits vaccinaux a quelque importance ou non, et, dans le premier cas, quelle est la voie qu'il faut adopter.

Ne soyons pas surpris que les choses soient ainsi : n'en est-il pas de même en chimie? La préparation d'un corps nécessite une étude approfondie de ce corps, et telle précaution est indispensable pour réussir une préparation, qui peut être superflue pour une autre.

Les immunisations, telles que nous les avons considérées, sont pratiquées à titre préventif : même l'immunisation antirabique, quand elle est faite chez un sujet mordu par un chien enragé, est faite en vérité préventivement, en raison de la très longue incubation du mal. Mais qu'arriverait-il si l'on pratiquait l'immunisation chez un sujet présentant déjà les symptômes caractéristiques d'une maladie? Assurerions-nous la guérison?

Comme l'injection immunisante ne fait apparaître une très minime immunité que quelques jours au moins (5, 8 jours et parfois plus) après elle, on ne saurait évidemment influencer l'évolution d'une maladie à évolution rapide, charbon, peste, choléra, p. ex.

Convient-il d'ailleurs d'injecter des microbes même modifiés chez un sujet qui souffre d'une semblable affection et qui n'en a pas encore eu raison : n'est-ce pas augmenter le nombre de ses ennemis, et n'en résulterait-il pas une aggravation du mal?

Aussi l'immunisation en cours d'infection, la *vaccinothérapie*, dit-on, n'est-elle qu'exceptionnellement employée. Les hommes sages ne l'ont tentée que dans le cas d'affections de gravité faible, à évolution lente et traînante, prenant volontiers le caractère chronique (certaines staphylococcies, bien localisées p. ex., ou certaines gonococcies à forme chronique); et ils se sont bien gardés d'injecter des microbes vivants ; ils ont recouru aux microbes tués dans des conditions convenables (disons qui ne privent pas ces microbes de leur action immunisante).

La vaccinothérapie a quelques rares succès à son actif ; elle ne constitue pas une méthode générale et à laquelle il faille attribuer une grande importance : c'est plutôt une simple curiosité scientifique.

Nous avons antérieurement étudié quelques propriétés des *sérums d'animaux immunisés contre des microbes ;* nous avons reconnu leurs pouvoirs agglutinant et bactériolytique, nous reconnaîtrons ci-dessous leur pouvoir

opsonique : la préparation d'immunisation modifie donc la composition du sérum. Le sérum des animaux vaccinés et immunisés contre des microbes ne serait-il pas *antimicrobien,* comme le sérum des animaux immunisés contre les toxines est antitoxique; c'est-à-dire ne pourrait-on conférer aux animaux neufs une immunité contre les microbes par injection du sérum d'animaux immunisés, comme on a conféré aux animaux neufs une immunité antitoxique? Existe-t-il une *immunité passive antimicrobienne,* comme il existe une immunité passive antitoxique?

Les recherches expérimentales ont permis de répondre affirmativement : *il y a des sérums antimicrobiens.*

On a constaté p. ex. que le sérum du convalescent de fièvre typhoïde peut, au moins parfois, préserver le cobaye ou le lapin de l'infection typhique expérimentale, qu'on développe chez l'animal neuf en injectant une culture typhique dans le péritoine.

Il est avantageux d'étudier la question des sérums antimicrobiens sur des animaux (chevaux ou lapins) hyperimmunisés, c'est-à-dire chez lesquels on a réalisé l'immunisation active, d'après les méthodes courantes, puis répété longuement les injections en augmentant la quantité et le pouvoir pathogène du produit injecté.

On possède ainsi plusieurs sérums antimicrobiens dont l'efficacité est non douteuse ; les principaux sont les *sérums antidysentérique, antiméningococcique, antistreptococcique, antipesteux, anticharbonneux, anticholérique,* etc.

L'immunité antimicrobienne active ne s'établit pas instantanément : ce n'est qu'au bout de plusieurs (5, 8 ou plus) jours qu'on peut en découvrir les premiers indices; elle augmente progressivement (même si on ne renouvelle pas l'injection) jusqu'à un maximum qui est atteint plus ou moins vite (généralement 2 à 3 semaines après l'unique inoculation). Elle est généralement durable (il y a toutefois de grandes différences selon la maladie : elle est très longue pour la variole, très courte pour la pneumonie), persistant de coutume au moins quelques années, parfois plus, rarement moins. Après s'être maintenue constante pendant longtemps, elle s'atténue progressivement, mais très lentement. Il serait, en ces questions, éminemment

imprudent de trop préciser : tout est question d'espèces, et chaque cas (selon l'espèce animale, ou l'espèce microbienne) doit faire l'objet d'une étude spéciale.

L'immunité acquise antimicrobienne est de courte durée quand elle est passive : elle ne persiste pas au delà de 3 semaines, et encore faut-il noter qu'elle diminue aussitôt qu'établie (au moins si le sérum antimicrobien a été injecté dans les veines), ou peu de temps après son établissement (si l'injection a été faite sous la peau), c'est-à-dire dès le second jour.

L'immunité antimicrobienne active est donc caractérisée par la lenteur de son établissement et par sa longue durée; l'immunité antimicrobienne passive, par la précocité de son établissement et par sa courte durée.

On a imaginé d'*associer les deux méthodes d'immunisation, l'active et la passive,* afin d'obtenir d'emblée une immunité passive, grâce à laquelle on peut injecter le vaccin ou les produits microbiens en quantité plus grande et sous une forme plus pathogène qu'on n'eût pu le faire sur un animal neuf. En procédant ainsi, on raccourcit la durée de la préparation d'immunisation, ce qui est parfois fort avantageux. Voici des exemples.

Nous avons noté que l'*immunisation contre la bactéridie* se fait en 2 temps en général : on injecte, à 8 jours d'intervalle environ, d'abord le 1er vaccin pasteurien, puis le 2e : en procédant ainsi, on se met à l'abri de tout accident et on ne détermine que des maladies extrêmement bénignes. Si l'on avait pratiqué d'emblée l'injection du second vaccin, on eût provoqué une maladie généralement guérissable, il est vrai, mais pourtant assez grave. Or si on injecte simultanément, chez un animal neuf, le second vaccin et une proportion convenable de sérum anticharbonneux, on peut aisément obtenir, sans déterminer une maladie sérieuse, une immunité très forte, aussi forte que celle qui succède à l'inoculation du second vaccin seul et à la maladie assez grave qu'il provoque.

Nous avons insisté ci-devant sur l'*immunité antirabique,* qui, pour être efficace chez le sujet mordu, doit être aussi rapidement établie que possible, afin de gagner de vitesse sur le processus infectieux. Or si on injecte 4 jours de suite au sujet mordu un mélange de virus fixe et de sérum antirabique (on obtient celui-ci en procédant ainsi : 3 fois à 1 semaine d'intervalle, on injecte dans les veines du mouton,

qui résiste à cette inoculation, du virus rabique fixe, puis on fait une longue série d'injections sous-cutanées à dose croissante), on peut dès le lendemain injecter au sujet des moelles qui n'ont pas plus de 2 à 6 jours de date, ce qui fait gagner du temps (la durée du traitement est réduite à 10 ou 12 jours, au lieu de 18 à 21).

Il faut pourtant remarquer que la méthode d'*immunisation mixte* est délicate à manier. Il importe que le mélange inoculé renferme assez de sérum, pour qu'il ne soit pas dangereux pour l'animal ainsi traité; mais il importe aussi que la dose de sérum ne soit pas trop considérable, car l'inoculation correspondrait alors à celle d'un microbe extrêmement atténué, et l'immunisation active ne s'établirait ni rapidement, ni franchement.

Avant de quitter ces questions d'immunité acquise et de vaccination, quelques phénomènes remarquables retiendront encore notre attention.

La vaccine confère une immunité de longue durée; mais pourtant temporaire (elle s'atténue lentement, mais finit par disparaîtrea près de longues années). Pendant cette décroissance de l'immunité vaccinale, nous devons avoir tous les degrés d'immunité, et nous pouvons considérer, au moins provisoirement, ces divers états d'immunité comme états d'*immunité partielle* (mieux vaudrait dire *diminuée* ou *réduite*).

Supposons qu'on inocule au niveau de la peau du pus vaccinal chez un sujet qui n'a pas encore été vacciné et qui n'a pas eu la variole. Le 3e jour une rougeur apparaît au point d'inoculation ; une pustule ombiliquée en son centre se développe et se gonfle progressivement, pour atteindre son développement maximum le 6e jour. Cette pustule renferme un liquide d'abord clair, puis trouble, puis purulent et de plus en plus purulent. A partir du 10e jour, la guérison se produit par disparition de l'inflammation, résorption du liquide et dessiccation du pus de la pustule, dont la surface est recouverte d'une croûte, tombant un peu plus tard, en laissant une cicatrice qui persiste indéfiniment.

Des années ont passé, l'immunité vaccinale qui était absolue (une scarification vaccinale ne conduit à la production d'aucun fait local) après la première vaccination, s'est atténuée, mais elle n'a pas encore totalement disparu. Nous pratiquons alors une scarification cutanée, à la surface de laquelle nous déposons le pus vaccinal : nous constatons, dans ces conditions particulières, que la réaction est à la fois plus

précoce et plus bénigne : la scarification rougit déjà après 1 jour, parfois même plus tôt, mais la pustule ne se produit pas ; il n'apparaît qu'une papule un peu surélevée, qui disparaît d'ailleurs après 1 ou 2 jours.

On désigne sous le nom d'*allergie* ce mode de réaction propre aux sujets qui sont en état d'immunité partielle ou réduite.

Que l'intensité de la réaction soit moindre qu'elle n'est chez l'individu neuf, c'est, s'emble-t-il, tout naturel ; mais qu'elle soit plus précoce, que la période d'incubation soit réduite, c'est plus étonnant ; car nous sommes habitués à voir les symptômes d'une maladie microbienne apparaître d'autant plus tôt, chez l'animal neuf tout au moins, que le sujet est plus sensible, ou le microbe plus pathogène. Si l'on prétendait que ces intéressantes particularités s'expliquent fort bien en admettant que les accidents locaux observés tout d'abord (rougeur et inflammation locales) sont produits par la réaction de l'organisme contre le pus inoculé, et que cette réaction se produit plus vite dans l'organisme immunisé que dans l'organisme neuf, nous répondrions que la réaction devrait être encore plus précoce, et sans doute plus vive, chez l'animal fortement immunisé, si cette conception est juste : or, chez l'animal fortement immunisé, la réaction ne se produit pas.

L'allergie n'est donc pas synonyme d'immunité réduite. Dans l'exemple analysé, il y a des faits d'immunité, ce sont l'avortement prématuré de la pustule et l'absence de cicatrice durable. Mais la précocité des accidents est-elle vraiment une manifestation d'immunité ? Avant de l'affirmer. peut-être conviendrait-il de chercher à le démontrer.

Bref, il est parfaitement légitime de désigner ces faits sous un nom spécial, allergie, plutôt que de les englober purement et simplement dans le groupe des faits d'immunité partielle ou réduite.

Si, chez un homme totalement indemne de lésions tuberculeuses, nous pratiquons une scarification, sur laquelle nous déposons une goutte de *tuberculine* (diluée au quart), rien ne se produit, ni rougeur, ni gonflement. Mais si le sujet ainsi traité est tuberculeux, ou a présenté antérieurement des accidents tuberculeux, il se produit au niveau de la scarification une réaction locale, dite *cutiréaction*. Au bout de quelques heures, apparaissent une rougeur et du gonflement ; une petite papule se montre, au centre de la zone congestionnée, pour disparaître d'ailleurs après 1 ou 2 jours : on dit que la cutiréaction a été positive. — On ne saurait nier les analogies de la cutiréaction et des petits accidents de la revaccination faite dans les conditions spécifiées ci-dessus. Dira-t-on que la cutiréaction est la manifestation d'une immunité partielle, acquise par l'homme tuberculeux sous l'influence justement des produits tuberculeux qu'il héberge ?

Supposons que, chez des sujets absolument indemnes de toute tuberculose présente ou antérieure, on instille une goutte de tuberculine fortement diluée à la surface de la conjonctive oculaire : il ne se produit ni lésions, ni accidents. Procédons de même chez un sujet tuberculeux (même assez faiblement tuberculeux pour que les manifestations cliniques n'existent pas), on voit la conjonctive rougir au bout de quelques heures, les larmes couler abondamment, et une exsudation muco-purulente se produire. Dira-t-on aussi que cette *ophtalmoréaction* est la manifestation d'une immunité partielle acquise par l'homme tuberculeux sous l'influence des produits tuberculeux qu'il héberge ?

Supposons enfin qu'on injecte la tuberculine sous la peau à dose faible, 1/2 mgr. p. ex. : il ne se produit aucune *réaction fébrile* chez l'homme non tuberculeux ; il s'en produit une très nette, souvent même très vive chez le tuberculeux. Dira-t-on que cette réaction générale à la tuberculine est la manifestation d'une immunité partielle acquise par le porteur de bacilles tuberculeux ?

Ce serait à coup sûr, dans ces trois cas, faire un singulier abus du mot immunité que de l'appliquer pour désigner un état de susceptibilité plus grande que celle qu'on constate chez l'animal neuf.

Des faits rigoureusement superposables à ceux qui viennent d'être exposés s'observent chez le *cheval morveux*, traité par la *malléine*, la malléine étant au bacille nerveux ce que la tuberculine est au bacille tuberculeux : on retrouve encore la cutiréaction, l'ophtalmoréaction et la réaction générale positives chez le cheval morveux, et nulles chez le cheval non-morveux.

On a signalé encore d'autres faits équivalents, p. ex. la congestion et la sécrétion muco-purulente qu'on provoque chez les typhiques en déposant sur la conjonctive une goutte de culture typhique filtrée, etc.

On a souvent rapproché ces divers phénomènes (tuberculine, malléine, etc.) de ceux que nous notions ci-dessus à propos de revaccination antivariolique, les rangeant tous dans le même groupe des faits d'allergie. Est-ce légitime ? Dans le cas de la revaccination, il y a deux particularités remarquables, la précocité de la rougeur et l'avortement de la pustule, ce dernier traduisant l'immunité partielle. Dans le cas de la cutiréaction et de l'ophtalmoréaction, nous avons bien la congestion précoce, mais où notons-nous un avortement quelconque, où reconnaissons-nous une réduction d'accidents ?

Si nous rangions tous ces faits en une même catégorie, les faits d'allergie, il faudrait bien, bon gré, mal gré, distinguer des espèces distinctes et probablement irréductibles. A quoi bon alors les réunir, pour ensuite les séparer ?

CHAPITRE XV

LES MÉCANISMES DE L'IMMUNITÉ ACQUISE

SOMMAIRE. — Intoxication et infection ; sérums antitoxiques et sérums antimicrobiens. — Immunité naturelle et immunité acquise ; immunité active et immunité passive. — L'immunité acquise antimicrobienne comporte un élément humoral : est-elle la conséquence d'un pouvoir microbicide des humeurs ? — Immunité antimicrobienne. — Examens d'immunités acquises contre les spirilles, le bacille pyocyanique, le bacille typhique, le rouget du porc, le streptocoque ; immunité antibactéridienne du rat et du mouton. — La bactériolyse n'est pas le mécanisme de l'immunité acquise. — De la phagocytose dans l'immunité acquise : inoculation de vibrions cholériques dans le péritoine, sous la peau, dans les vaisseaux, etc. — De quelques moyens de réduire ou de supprimer la phagocytose. — Cas du vibrion avicide. — De l'immunité antibactéridienne du lapin et du rôle de la phagocytose dans cette immunité. — De l'immunité antibactéridienne du rat. — Immunité antimicrobienne passive ; sérum antibactéridien, sérum anticholérique. — Phagocytose et immunité passive antibactéridienne et antistreptococcique. — De la substance active des sérums antimicrobiens et de son mode d'action : cette substance n'agit pas sur les leucocytes pour exagérer leur pouvoir phagocytaire, mais sur le microbe pour le rendre plus phagocytable. — Action des sérums antimicrobiens sur la phagocytose in vitro. — De la phagocytose des cadavres microbiens et de son exagération chez les animaux immunisés. — Pouvoir opsonique et opsonines. — Opsonines normales ; opsonines des humeurs des animaux immunisés ou immunopsonines : leur spécificité. — Des deux éléments constituant l'opsonine : substance thermostabile et substance thermolabile ; sensibilisatrice et alexine. — Rapprochement de la bactériolyse et de l'opsonisation. — Opsonisation et consommation d'alexine : de la véritable signification de la fixation de la sensibilisatrice et de la consommation d'alexine par les microbes. — La bactériolyse est exceptionnelle ; l'opsonisation est générale. — Agglutination et opsonisation : l'agglutination joue-t-elle un rôle dans l'immunité ? — Pouvoir opsonique et ses variations. — Encore un mot sur la vaccinothérapie. — Série de questions posées et non

résolues dans le domaine de l'immunité antimicrobienne acquise. — Les deux conceptions irréductibles du mécanisme de l'immunité acquise : pouvoir bactéricide des humeurs et phagocytose ; sommaire analyse. — La part respective de l'opsonisation et de la phagocytose dans l'immunité acquise. — Réserves nécessaires. — Sérums antitoxiques et sérums antimicrobiens. — Variabilité des leucocytes ; insuffisance leucocytaire. — Indications présidant à la préparation des sérums antimicrobiens.

En étudiant l'*immunité naturelle antimicrobienne,* nous avons reconnu qu'elle n'est pas la conséquence de quelque propriété microbicide ou antimicrobienne des humeurs de l'organisme réfractaire, mais la conséquence de la *phagocytose* ; c'est une *propriété cellulaire* ; c'est une propriété de ces cellules que nous avons appelées *phagocytes,* et qui sont essentiellement représentées par les globules blancs, *microphages* et *macrophages.* Or nous avions reconnu antérieurement que l'*immunité naturelle contre les toxines* et contre les venins était aussi *cellulaire,* ne relevant pas de la présence de quelque substance antitoxique ou antivenimeuse dans les humeurs de l'animal réfractaire. Donc les deux immunités naturelles, l'antitoxique et l'antimicrobienne, sont conséquences de propriétés cellulaires, non certes d'ailleurs des mêmes cellules, car si l'immunité naturelle antimicrobienne est conséquence des propriétés des leucocytes, l'immunité naturelle antitétanique est conséquence des propriétés de cellules nerveuses, l'immunité naturelle anticobraïque est conséquence des propriétés des plaques motrices terminales, etc.

L'identité constatée pour les mécanismes des immunités naturelles antimicrobiennes et antitoxiques, se retrouve-t-elle pour les immunités acquises? *L'immunité antitoxique acquise est humorale; l'immunité antimicrobienne acquise est-elle également humorale?*

Notons une *première ressemblance* : l'immunité antitoxique acquise peut se transporter de l'animal qui la possède à la suite de la préparation d'immunisation à un animal neuf : il suffit d'injecter à l'animal neuf du *sérum de l'animal activement immunisé.* De même l'immunité antimicrobienne acquise peut se transporter de l'animal qui la possède à la suite de la préparation d'immunisation à un animal neuf : il suffit encore d'injecter à l'animal neuf du sérum d'animal activement immunisé : on réalise ainsi l'*immunité antimicrobienne passive* ; nous avons noté antérieurement la possibilité de l'obtenir vis-à-vis des infections dysentériques, méningococciques, streptococciques, pesteuses, charbonneuses, cholériques, etc.

On est donc autorisé à dire que l'immunité antimicrobienne acquise est humorale comme l'immunité antitoxique acquise, ou plus exactement, et pour ne pas dépasser les faits observés, comporte un *élément humoral* (cette réserve dans la forme de l'énoncé s'impose, car il se pourrait que l'immunité antimicrobienne acquise fût à la fois humorale et cellulaire.

Mais quelle est la signification précise de cet élément humoral dans le mécanisme de l'immunité antimicrobienne acquise? Les humeurs de l'animal immunisé contre un microbe renferment un élément qui, transporté chez l'animal neuf, l'immunise passivement: voilà le fait observé. Mais cet élément caractéristique des humeurs de l'animal immunisé est-il *directement antimicrobien,* c'est-à-dire détruit-il, désagrège-t-il, dissout-il, tue-t-il, ou neutralise-t-il les microbes? comme l'antitoxine neutralise la toxine en agissant directement sur elle, en s'unissant à elle? Ou bien, l'élément caractéristique des humeurs du sujet immunisé est-il *indirectement antimicrobien,* c'est-à-dire agit-il pour exalter p. ex. le mécanisme qui assure l'immunité naturelle, la phagocytose, et, dans ce cas-là, active-t-il la phagocytose en modifiant (sans d'ailleurs le désagréger ou le tuer) le microbe, ou en modifiant le phagocyte, ou en modifiant l'un et l'autre?

Le problème est donc complexe (encore n'en avons-nous indiqué que quelques aspects); pour en trouver la solution, il sera nécessaire de procéder méthodiquement.

Le *sérum,* et plus généralement les *humeurs des animaux immunisés* contre un microbe déterminé, *sont-ils bactéricides pour ce microbe;* et, dans l'hypothèse où le sérum de l'animal neuf de même espèce présente déjà un faible pouvoir microbicide pour le microbe considéré, le sérum de l'immunisé est-il plus fortement bactéricide?

Si on introduit dans le péritoine du cobaye en quantité suffisante des *vibrions cholériques,* ils y prospèrent, c'est-à-dire s'y multiplient et déterminent rapidement une septicémie mortelle : les liquides péritonéaux ou le sang du cobaye normal ne tuent pas le vibrion cholérique. Immunisons le cobaye, en injectant à plusieurs reprises des vibrions cholériques sous la peau, puis injectons dans le péritoine

du cobaye immunisé des vibrions cholériques : on constate que très rapidement ils subissent une transformation granuleuse, devenant immobiles, sphériques, peu réfringents et peu colorables : ils sont d'ailleurs morts quand ils se présentent sous la forme granuleuse, car ils ne végètent plus si on les ensemence dans un bouillon de culture. Cette transformation granuleuse est due aux humeurs, car, à la suite de l'injection des vibrions, les leucocytes péritonéaux ont à peu près disparu totalement et ne réapparaissent que longtemps après que la transformation granuleuse est universellement accomplie.

La même transformation granuleuse se produit chez le cobaye qu'on n'a pas activement immunisé, mais auquel on a injecté (pour réaliser l'immunité passive) dans le péritoine, ou sous la peau de fortes proportions de sérum d'animaux activement immunisés : si, quelques heures plus tard, ou le lendemain, on injecte dans le péritoine des vibrions, ils subissent très rapidement la transformation granuleuse.

Le même phénomène enfin se produit in vitro : si, dans une goutte de sérum de cobaye immunisé contre le vibrion cholérique, on introduit très peu d'une culture de ce vibrion, la transformation s'accomplit, et on en peut suivre le développement dans le champ du microscope.

N'est-on pas autorisé à conclure de faits aussi catégoriques que l'immunité antimicrobienne acquise résulte de l'apparition dans les humeurs, et notamment dans le sérum et dans la sérosité péritonéale, d'une substance microbicide qui n'existait pas dans le sérum et dans la sérosité de l'animal neuf?

Pourtant, avant de conclure, et surtout avant de promulguer quelque loi qui aurait un caractère de généralité, faisons une enquête aussi étendue que possible, s'appliquant en tous cas au moins à plusieurs types microbiens. En biologie, il est indispensable de multiplier les exemples, car la nature n'est pas aussi simple que nous l'imaginons volontiers.

Injectons dans le péritoine du cobaye du sang humain renfermant des *spirilles de la fièvre récurrente* : ces microbes, nous l'avons noté, disparaissent englobés par les leucocytes, sans avoir été préalablement transformés par les liquides péritonéaux. Supposons qu'on ait injecté à plusieurs reprises sous la peau de cobayes le sang à spirilles et que, chez les animaux ainsi préparés, on introduise le même sang

à spirilles dans le péritoine, on constate une bactériolyse, non pas, sans doute, une transformation granuleuse (comme pour les vibrions), mais une transformation pourtant : les spirilles ne tardant pas à devenir très grêles (une partie de leur contenu est exsudée sous forme de petites gouttelettes sphériques), immobiles et agglutinés.

Le *bacille du pus bleu* ou *bacille pyocyanique* engendre, chez le cobaye, une maladie expérimentale, contre laquelle on peut immuniser l'animal en injectant à plusieurs reprises sous la peau soit des microbes, soit le liquide de leur culture. Si on fait agir in vitro le sérum de cobaye immunisé sur des bacilles pyocyaniques, on reconnaît qu'ils ne sont pas tués. Il y a plus, on peut fort bien cultiver les bacilles pyocyaniques sur le sérum d'animaux immunisés contre lui, aussi bien certainement que sur le sérum d'animaux neufs. Deux petits faits seulement doivent retenir notre attention. Cultivés sur sérum de cobaye neuf, les bacilles pyocyaniques se présentent isolés ; cultivés sur sérum de cobaye immunisé, ils forment des chaînettes plus ou moins longues, groupées en amas (ce qui est une manifestation de pouvoir agglutinant, mais non de pouvoir bactériolytique). Cultivés sur sérum de cobaye immunisé, le bacille pyocyanique ne produit plus la pyocyanine ou pigment bleu, qui le caractérisait quand il était cultivé dans les milieux d'usage courant, ou sur sérum de cobaye neuf (ce qui prouve une modification biologique, mais non une destruction).

Si, dans le péritoine d'un cobaye neuf, on injecte des bacilles pyocyaniques, ils ne subissent pas de changements sous l'influence de la sérosité péritonéale ; ils se développent et engendrent une maladie mortelle. S'ils sont injectés dans le péritoine d'un cobaye immunisé contre eux, ils ne subissent pas de changement rappelant la transformation granuleuse des vibrions ; ils deviennent seulement un peu plus courts et un peu plus épais qu'ils n'étaient quand on les a injectés. Ils ne sont pas tués d'ailleurs, car une goutte de la sérosité péritonéale étant retirée quelques 2 à 3 h. après l'injection les microbes qu'elle renferme se développent fort bien en un bouillon de culture, et aussi bien que le prélèvement ait été fait chez le cobaye neuf, ou chez le cobaye immunisé. — Les humeurs du cobaye immunisé ne se sont pas montrées bactéricides ; elles ont tout juste fait subir au bacille de très petits changements de forme. L'immunité du cobaye vis-à-vis du bacille pyocyanique n'est donc pas la conséquence d'une propriété bactéricide des humeurs.

Le cobaye est immunisé sans peine contre la *maladie typhique expérimentale* (injection sous-cutanée de très petites quantités de la culture, ou de bacilles tués par la chaleur, ou du bouillon filtré, etc.). L'injection intrapéritonéale de bacilles typhiques étant prati-

quée chez le cobaye immunisé, les bacilles ne subissent pas d'altération, par la sérosité, aussi grave que celle manifestée par les vibrions cholériques : on constate simplement que les bacilles sont immobiles et agglutinés chez l'animal immunisé, alors qu'ils demeurent mobiles et libres chez l'animal neuf ; notons encore que certains d'entre ces bacilles (mais non pas tous) deviennent moins réfringents et moins colorables. Ces bacilles ne sont d'ailleurs pas tués : une goutte de l'exsudat péritonéal bacillaire étant prélevé 1 à 2 h. après l'injection les microbes qu'elle renferme se développent parfaitement bien sur bouillon, quelle que soit leur origine (cobaye neuf ou immunisé).

On obtient des résultats identiques quand on expérimente avec des *bacilles paratyphiques* sur des cobayes immunisés contre ceux-ci.

Le sérum des lapins fortement immunisés contre le *microbe du rouget du porc* n'est pas toxique pour ce microbe. Si on ensemence avec une culture du microbe du rouget du porc, du sérum de lapin immunisé, le microbe se développe très bien, sous forme de chaînettes formées de nombreux éléments (cette disposition exceptionnelle est une manifestation d'agglutination). Si on traite une culture du microbe par le sérum de lapin immunisé, les microbes s'agglutinent fortement et se déposent en gros flocons ; mais ils conservent leur vitalité, car si on les lave et si on les centrifuge, pour enlever toute trace de sérum agglutinant, ils se cultivent comme des microbes normaux et manifestent la même puissance pathogène que ceux-ci. Bref le sérum des lapins immunisés n'est pas bactéricide.

On a pu immuniser le lapin contre le *streptocoque*, qui possède vis-à-vis de cet animal un pouvoir pathogène considérable. Or le sérum de tels lapins n'est pas toxique pour les streptocoques. qui se développent sur ce liquide aussi abondamment que sur le sérum de lapins neufs. Il en est de même quand le sérum est fourni par la chèvre fortement immunisée : aucune action microbicide ne se manifeste. Tout au plus, le sérum des animaux immunisés provoque-t-il la formation de quelques amas microbiens, d'ailleurs beaucoup moins volumineux que dans le cas du vibrion cholérique, ou du bacille typhique ; mais les streptocoques en amas sont vivants et leur activité pathogène n'a pas subi de diminution.

Le sérum du rat neuf est nettement bactéricide pour la *bactéridie charbonneuse* : les bactéridies immergées dans ce sérum deviennent moins réfringentes ; elles semblent se vider et se réduire à leur membrane d'enveloppe ; les réactions de colorations sont presque nulles quand les bactéridies ont été ainsi modifiées ; d'ailleurs les bactéridies sont mortes, car elles ne sauraient plus être cultivées. Le plasma sanguin et la sérosité d'œdème du rat neuf, par contre, n'agisssent pas sur la bactéridie. — On peut facilement immuniser les rats, sur-

tout les rats blancs contre ce microbe, et leur conférer une très forte immunité. Or le sérum des rats immunisés est bactéricide comme le sérum des rats neufs, mais il n'est pas plus bactéricide que lui ; quant au plasma ou à la sérosité d'œdème, ils ne sont pas bactéricides chez le rat immunisé, comme chez le rat neuf.

Le sérum des moutons neufs est très faiblement bactéricide pour la bactéridie ; mais cette propriété est peu marquée, si peu marquée que la bactéridie peut être cultivée sur sérum de mouton neuf. Le mouton peut être très fortement immunisé contre la bactéridie ; le sérum d'un tel mouton est encore très faiblement bactéricide, ni plus ni moins d'ailleurs que celui du lapin neuf, et les cultures de bactéridies se font dans les deux sérums (celui du mouton neuf et celui du mouton immunisé) avec la même abondance et la même rapidité.

Le sérum du cobaye enfin n'est pas bactéricide pour la bactéridie ; le sérum du cobaye immunisé contre elle ne l'est pas plus que le sérum du cobaye neuf.

En résumé, pour les vibrions et pour les spirilles, l'action bactéricide du sérum et des humeurs des animaux immunisés se manifeste avec la plus grande netteté. Elle est indiquée pour le bacille pyocyanique et pour le bacille typhique. Mais on ne l'observe pas pour le streptocoque, pour le microbe du rouget du porc, pour la bactéridie (chez le cobaye tout au moins ; chez le rat et le mouton, elle s'observe, mais au même degré que chez l'animal neuf), auxquels on pourrait ajouter le pneumocoque, le staphylocoque, le bacille pesteux, le bacille dysentérique, etc., etc.

En faut-il conclure qu'il y a, suivant les espèces microbiennes considérées, deux modes de défense dans l'immunité acquise : certains microbes seraient tués par les humeurs des animaux immunisés, les autres résisteraient à ces humeurs et l'immunité correspondante relèverait de quelque autre cause à déterminer.

Cette conception ne saurait être acceptée, car on peut établir que l'*immunité persiste chez les animaux préparés, même quand on opère dans des conditions où la bactériolyse est entravée ou supprimée.* C'est ce qui a lieu quand on inocule les vibrions, les spirilles, les bacilles typhique ou pyocyanique *sous la peau ou dans la chambre*

antérieure de l'œil. C'est ce qui a lieu encore quand l'inoculation est faite dans le péritoine si l'on a pris soin d'y injecter du bouillon 24 heures auparavant. Dans ces conditions diverses les transformations morphologiques ci-dessus notées ne se produisent pas, mais l'immunité persiste.

Donc, même dans les cas où certaines humeurs sont aptes à déterminer la bactériolyse, celle-ci ne nous apparaît pas comme étant l'élément essentiel de l'immunité, ni même comme possédant une certaine importance pour la réalisation de la protection de l'organisme immunisé.

La bactériolyse, quand elle se produit, est un fait intéressant, scientifiquement parlant, et dont nous avons tiré profit ci-devant dans l'étude que nous avons faite des sérums bactériolytiques, hématolytiques et cytotoxiques et dans l'étude de l'alexine; mais ce n'est rien de plus, semble-t-il, qu'un *accident,* ou, si l'on veut, un *incident.*

Comment est donc assurée l'immunité dans l'immunité acquise? Les humeurs ne tuent pas en général le microbe. Seraient-ce encore les *leucocytes* qui interviendraient pour les phagocyter, comme ils le faisaient dans l'immunité naturelle? Rappelons que nous avons reconnu ci-dessus que l'immunité naturelle est intimement liée à la phagocytose : elle existe là où les leucocytes viennent englober les bactéries; elle n'existe pas là où, pour une cause quelconque, les leucocytes n'englobent pas les bactéries, ou ne les englobent pas toutes.

L'immunité acquise aurait-elle pour base la *phagocytose,* et la différence entre l'animal neuf réceptif et l'animal immunisé réfractaire tiendrait-elle à ce que la phagocytose ne se produit pas chez le premier, au moins de façon suffisante, tandis qu'elle se produit suffisante chez le second?

Reprenons, pour les développer et les étendre, les exemples de tout à l'heure.

Les vibrions, p. ex. le *vibrion cholérique,* subissent la transformation granuleuse dans le péritoine des cobayes immunisés contre eux. Les leucocytes, qui disparaissent à peu près complètement au moment de l'inoculation intrapéritonéale, reviennent ensuite et englobent les

granules dérivés des vibrions. Ici la bactériolyse a précédé la phagocytose, mais c'est un accident, comme nous l'avons dit ci-dessus. — Supposons qu'on injecte dans le péritoine du cobaye immunisé quelques c. c. de bouillon fraîchement préparé et chauffé à 38°, il se produit une hypoleucocytose immédiate, puis les leucocytes reviennent abondants. Si, 24 h. plus tard, on injecte dans le péritoine une culture de vibrions, l'hypoleucocytose ne se produit pas, ou elle est très atténuée. Dans ces conditions, la phagocytose se produit presque instantanément et, quelques (2 à 5) min. après l'injection des vibrions, on ne trouve plus dans la sérosité péritonéale que de très rares vibrions libres, ayant d'ailleurs conservé leur forme, leur mobilité et leurs colorabilités normales ; la presque totalité des vibrions a été absorbée par les leucocytes avant d'avoir subi aucune transformation, et, dans les leucocytes, on les reconnaît encore avec tous leurs caractères morphologiques et histo-chimiques normaux. Ce n'est qu'ensuite et dans l'intérieur des leucocytes qu'ils subissent la transformation granuleuse. — Voilà donc une phagocytose qui se produit d'emblée, et qui suffit à assurer l'immunité absolue du cobaye : le pouvoir bactéricide des humeurs n'a joué aucun rôle ; la phagocytose a suffi à elle seule à assurer l'immunité.

Il en est de même quand on injecte dans le tissu cellulaire sous-cutané une culture vibrionienne (en choisissant une variété, le vibrion de Massaouah p. ex., capable de tuer le cobaye neuf quand on l'injecte sous la peau) chez le cobaye immunisé contre le microbe qu'elle contient.

On ne reconnaît à aucun moment la bactériolyse extraleucocytaire ; à aucun moment, on n'aperçoit les granules vibrioniens. Peu à peu, les vibrions sont phagocytés par les leucocytes, à mesure qu'ils affluent ; la phagocytose se faisant pour des vibrions indemnes de toute altération morphologique. L'immunité est ici encore assurée par la seule phagocytose.

Il en est de même quand, chez l'animal immunisé, on introduit le vibrion dans la chambre antérieure de l'œil. L'animal survit ; les vibrions n'ont d'ailleurs subi aucune altération sous l'influence du liquide contenu dans cette chambre antérieure de l'œil ; ils sont englobés intacts, assez tardivement du reste, par les leucocytes, qui arrivent lentement.

Dans ces diverses conditions donc, on note *la phagocytose seule et l'immunité sans bactériolyse extra-leucocytaire*. N'est-ce pas la preuve que, dans l'immunité acquise, la phagocytose est l'élément essentiel, prépondérant, et même le plus souvent exclusif de tout autre?

Pour donner plus de poids encore à cette conclusion, nous allons réaliser *telles conditions expérimentales qui retarderont et limiteront,* chez l'animal immunisé, *la phagocytose,* afin de rechercher si, dans ces conditions, l'immunité n'est pas supprimée.

En injectant à des cobayes de l'*opium* à dose non mortelle, on supprime les mouvements de leurs leucocytes et leur diapédèse : on le vérifie en insérant sous la peau de l'animal de petits tubes ouverts à une extrémité et contenant une culture cholérique p. ex. ; quelques heures plus tard, on retire un tube bourré de leucocytes si le cobaye n'avait pas reçu d'opium ; on le retire ne contenant pas de leucocytes si le cobaye avait reçu une injection d'opium.

Chez des cobayes immunisés contre le vibrion cholérique, et dont les uns ont reçu de l'opium, tandis que les autres n'en ont pas reçu, injectons dans le péritoine une quantité égale d'une même culture cholérique. On constate, par l'examen du liquide péritonéal, que ce liquide se remplit rapidement de leucocytes chez les derniers (sans opium), tandis qu'il n'en renferme chez les premiers (à opium) que 6 h. au moins après l'inoculation ; on reconnaît que la phagocytose se fait convenablement et rapidement chez les derniers, tandis que chez les premiers, où elle ne saurait se faire que tardivement, elle est incomplète, car les vibrions entre temps se sont multipliés à l'infini. Les cobayes sans opium ne sont pas malades ; les cobayes à opium meurent d'infection cholérique. — Ces faits établissent avec une netteté parfaite le rôle essentiel de la phagocytose dans l'immunité antivibrionienne.

En vérité *c'est l'existence ou l'absence de phagocytose* (et aussi sa *précocité* ou sa *lenteur*), *qui font que l'animal est immunisé ou ne l'est pas.* C'est là la conclusion à laquelle nous avaient amenés nos études sur l'immunité naturelle ; c'est là la conclusion à laquelle nous conduisent les présentes études sur l'immunité acquise. Chez un animal neuf sensible à une infection, la phagocytose ne se fait pas pour l'agent de cette infection, ou ne se fait que partiellement et lentement ; chez le même animal immunisé contre cette même infection, la phagocytose se fait, pour ce même agent, généralement rapide et totale.

Voici p. ex. un vibrion voisin du vibrion cholérique, le *vibrion avicide,* qui est pathogène pour le cobaye neuf. Inoculons-le dans le

tissu cellulaire sous-cutané d'un cobaye neuf : il s'y développe abondamment sans que les phagocytes arrivent, et il provoque une infection rapidement mortelle (la phagocytose ne s'est pas produite). Inoculons-le, au contraire, dans le tissu cellulaire sous-cutané d'un cobaye fortement immunisé contre lui ; il se forme une exsudation locale, dans laquelle arrivent rapidement les leucocytes issus des capillaires par diapédèse, et qui englobent en hâte les vibrions bien vivants, ne présentant aucune altération reconnaissable ; la destruction intraphagocytaire s'accomplit ensuite lentement, mais sûrement. Le cobaye survit (la phagocytose s'est produite).

Notons encore une fois que l'*englobement phagocytaire n'a pas comme condition la mort ou l'atténuation du vibrion,* car si on porte à 36° une goutte de l'exsudat leucocyto-microbien, on peut reconnaître que les vibrions s'y développent abondamment dans l'intérieur des leucocytes (hors de l'organisme, les leucocytes étant ainsi dans des conditions anormales), et après avoir rempli de leurs nombreux individus le contenu leucocytaire, ils en brisent les limites pour continuer à se multiplier dans l'exsudat.

Si on introduit ce même vibrion avicide dans le péritoine (et non plus sous la peau) du cobaye, auquel on a injecté 24 h. auparavant du bouillon dans le péritoine, pour que l'inoculation microbienne ne provoque pas l'hypoleucocytose coutumière, les choses se passent différemment selon que le cobaye est neuf ou immunisé. Si le cobaye est neuf (non immunisé contre le vibrion avicide), la phagocytose ne se produit pas, ou ne se produit que très incomplètement ; l'infection éclate et conduit l'animal à la mort. Si le cobaye est immunisé contre le vibrion avicide, la phagocytose se produit presque instantanément et ne laisse aucun vibrion libre : l'infection ne se développe pas, le cobaye survit sans accident.

Est-il besoin d'ajouter que le cobaye immunisé contre le vibrion cholérique se comporte comme un cobaye neuf vis-à-vis du vibrion avicide, et qu'inversement le cobaye immunisé contre le vibrion avicide se comporte comme le cobaye neuf vis-à-vis du vibrion cholérique. *L'immunité est rigoureusement spécifique* : le pouvoir d'augmenter le chimiotaxisme des leucocytes est limité aux seuls microbes pathogènes pour lesquels il y a eu immunisation.

Il est inutile de reprendre un à un tous les cas examinés ci-dessus à l'occasion de notre étude relative au pouvoir bactéricide des vaccinés : il suffira de prendre un seul exemple complémentaire.

Le *lapin* est sensible au *charbon bactéridien,* quand il s'agit d'une

variété très pathogène de bactéridie. Il est réfractaire, par contre, aux deux vaccins pasteuriens. Le lapin d'ailleurs peut être fortement immunisé contre la bactéridie très pathogène par inoculation successive des deux vaccins pasteuriens. Injectons une culture de bactéridies sous la peau de lapins neufs, il se produit un exsudat assez abondant très limpide, pauvre en leucocytes ; la majorité des bactéridies demeurent libres et se multiplient, quelques rares bactéridies seulement sont englobées par les quelques leucocytes présents ; l'infection se produit et la mort s'ensuit. — Chez les lapins immunisés, les leucocytes affluent très nombreux dans l'exsudat (qui devient trouble) et englobent rapidement et totalement les bactéridies présentes ; l'infection ne se produit pas. L'englobement des bactéridies dans ce dernier cas, n'a été précédé d'aucune modification de leur vitalité ou de leur capacité pathogène, car une goutte de l'exsudat riche en leucocytes chargés de bactéridies (et n'en contenant plus aucune libre) étant inoculé à un cobaye neuf (condition défavorable à la vitalité des leucocytes passant du milieu lapin au milieu cobaye), on assiste à l'établissement d'un charbon mortel.

Ce remarquable *chimiotaxisme positif constaté chez le lapin immunisé*, et le *chimiotaxisme négatif constaté chez le lapin neuf* vis-à-vis de la *bactéridie* se manifestent pour la *spore* comme pour la forme végétante. La spore est phagocytée comme la bactéridie chez le lapin immunisé ; elle n'est pas plus phagocytée que la bactéridie chez le lapin neuf. Il y a toutefois une différence à signaler : la bactéridie est rapidement détruite dans le protoplasma leucocytaire et de ce fait l'animal est définitivement à l'abri de toute infection ; la spore demeure inaltérée dans les leucocytes pendant des semaines et peut-être des mois : elle ne s'y développe pas sans doute et l'organisme se comporte en tout et pour tout comme un organisme sain ; mais elle y conserve longuement sa vitalité, car on peut obtenir des cultures bactéridiennes en ensemençant une goutte d'exsudat péritonéal dans du bouillon longtemps après l'englobement des bactéridies. Et l'on conçoit que telles influences pourraient agir, telles conditions pourraient se réaliser qui permettraient à la spore, temporairement emprisonnée dans le phagocyte, d'en sortir pour engendrer en se multipliant libre une infection tardive : mais nous ne saurions trop insister sur ce point, en général l'englobement suffit à assurer la santé définitive du sujet inoculé.

Donc pratiquement, *dans l'acte de la phagocytose, l'englobement des microbes est l'acte suffisant de la défense* ; la destruction intraleucocytaire étant simplement la liquidation totale d'une affaire antérieurement réglée.

Ces faits relatifs à l'immunité antibactéridienne sont si typiques qu'il vaut la peine d'y insister. Nous avons noté antérieurement que

le sérum (mais non le plasma, ou les humeurs) *du rat est bactéricide.* Injectons des bactéridies sous la peau d'un rat neuf ; il se produit en quelques heures (3 à 5 p. ex.) un exsudat extrêmement pauvre en leucocytes (dont quelques-uns seulement renferment de rares bactéridies) et dans lequel les bactéridies se multiplient rapidement et abondamment, déterminant l'infection. Faisons la même inoculation chez le rat immunisé contre la bactéridie, il ne se produit qu'un exsudat peu abondant, mais qui est infiniment riche en leucocytes (il a en conséquence un aspect purulent), ces derniers se remplissant de très nombreuses bactéridies : aucune bactéridie ne demeure libre dans le milieu : l'infection ne se produit pas. — Donc *chimiotaxisme négatif chez le rat neuf, chimiotaxisme positif chez le rat immunisé* ; absence de phagocytose chez le premier, englobement rapide et total des bactéridies chez le second ; sensibilité du premier, immunité du second.

On a donné à la démonstration des modifications du chimiotaxisme sous l'influence de l'immunisation une forme élégante : on insinue dans le péritoine d'un animal neuf, ou d'un animal immunisé des tubes étroits fermés à une extrémité, ouverts à l'autre, contenant une culture bactéridienne. Chez l'animal neuf, quelques rares leucocytes errent à l'orifice du tube ; chez l'animal immunisé, un gros bouchon leucocytaire remplit l'extrémité du tube.

N'insistons pas : les faits sont trop clairs et trop décisifs pour qu'il faille les multiplier. Des expériences équivalentes ont été faites pour le streptocoque, le microbe du choléra des poules, etc. Tous ces microbes inoculés sous la peau d'un animal sensible provoquent l'afflux d'un exsudat très pauvre en leucocytes et dans lequel la phagocytose ne se produit pas, ou à peu près pas. La même inoculation faite chez les animaux immunisés détermine la formation d'un exsudat moins abondant, mais très riche en leucocytes, dans lequel les microbes sont rapidement et totalement englobés; la destruction intraleucocytaire est d'ailleurs plus ou moins longue selon l'espèce animale et selon l'espèce microbienne.

Les mêmes résultats sont obtenus quand il s'agit d'*immunité passive,* c'est-à-dire de cette immunité qu'on peut conférer à un animal neuf par injection de sérum fourni par un animal activement immunisé. Dans ce cas encore, *ce n'est pas quelque pouvoir bactéricide qui est en jeu, c'est la phagocytose qui est exaltée.*

Deux exemples suffiront à justifier ces dernières propositions : nous les choisirons dans l'histoire de microbes pour lesquels ne se manifeste pas d'action bactéricide des humeurs, afin de simplifier notre exposé.

Injectons à un lapin neuf du *sérum de cobaye fortement immunisé contre la bactéridie*, puis, 24 h. plus tard, inoculons sous la peau de l'oreille du lapin une culture de bactéridies (nous savons, et d'ailleurs nous pouvons le vérifier, que le sérum anticharbonneux employé n'est pas bactéricide ; il ne désagrège pas, il ne tue pas la bactéridie). L'afflux leucocytaire est rapide ; l'englobement se fait vite : déjà 1/2 h. après l'inoculation presque toutes les bactéridies ont disparu du milieu ; 1 h. après l'inoculation, il n'en reste plus. On sait, et nous l'avons dit ci-dessus que les mêmes bactéridies inoculées au même lieu, chez le lapin neuf, provoquent un abondant exsudat presque totalement dépourvu de leucocytes, dans lequel les bactéridies vivent et se multiplient sans être saisies par les phagocytes, et finalement déterminent un charbon rapidement mortel.

Injectons chez un lapin neuf du *sérum anticharbonneux de cobaye* sous la peau, et introduisons quelques c. c. de bouillon dans sa cavité péritonéale. Après 24 h., injectons dans la cavité péritonéale une culture bactéridienne : la phagocytose est très rapide ; on pourrait même dire qu'elle est instantanée, car, 2 min. déjà après l'injection, la plus grande partie des bactéridies est phagocytée, et, 10 min. plus tard, la totalité des bactéridies a été englobée par les leucocytes : la santé du sujet demeure inaltérée.

Bref l'animal passivement immunisé par injection de sérum anticharbonneux se comporte comme se comporterait l'animal activement immunisé contre la bactéridie.

On peut d'ailleurs montrer qu'en l'absence de phagocytose, les lapins passivement immunisés ne résistent pas à l'inoculation charbonneuse. Supposons que nous provoquions la formation d'une *ecchymose* dans l'épaisseur de l'oreille en la soumettant à une série de chocs : le sang épanché sous la peau y coagule. Injectons chez un lapin neuf ainsi préparé du sérum anticharbonneux sous la peau du flanc et, 24 h. après l'injection du sérum, poussons dans l'épaisseur du caillot de l'oreille une culture bactéridienne. Nous constatons que le lapin présente les symptômes du charbon et meurt. Si l'on avait injecté la même quantité de la même culture sous la peau de l'oreille ne contenant pas l'ecchymose et le caillot, l'animal eût survécu sans accidents. Chez ce dernier, aucun obstacle ne s'oppose à l'afflux des leucocytes dans la zone d'inoculation et à la phagocytose des bactéridies inoculées ; chez le premier, les phagocytes ne

peuvent pénétrer dans les mailles du caillot sanguin pour atteindre les bactéridies qui s'y trouvent.

On peut donner une autre forme à cette expérience. A des lapins ayant reçu 24 h. auparavant une injection sous-cutanée de sérum anticharbonneux, on injecte sous la peau du sang charbonneux avant qu'il ait coagulé : la coagulation se fait dans la zone d'inoculation, les bactéridies sont englobées dans le caillot : le lapin meurt charbonneux, la phagocytose n'a pu se faire, les leucocytes étant incapables de pénétrer dans l'intérieur du caillot. Par contre, si, toutes conditions égales, on injecte à des lapins préalablement traités par le sérum anticharbonneux, du sang charbonneux défibriné, l'animal survit : la phagocytose pouvait s'accomplir ici.

On obtient des résultats identiques quand on substitue les *streptocoques* aux bactéridies, et le *sérum antistreptococcique* au sérum anticharbonneux. En immunisant le cheval ou le lapin contre le streptocoque, on peut obtenir un sérum antistreptococcique : ce sérun n'est pas microbicide, car les streptocoques se développent quand on les y ensemence et aussi bien que dans le sérum normal ; les chaînettes sont peut-être un peu plus longues dans le sérum d'immunisé, un peu plus courtes dans le sérum normal ; mais le microbe conserve le même pouvoir pathogène qu'il soit cultivé dans l'un ou dans l'autre sérum.

Si on injecte sous la peau du lapin neuf une forte proportion de sérum antistreptococcique et, 24 h. plus tard, une quantité modérée de streptocoques dans le péritoine, on constate que la phagocytose s'y fait rapide et complète : le lapin survit. Si la même inoculation microbienne est faite dans le péritoine d'un lapin neuf n'ayant pas reçu de sérum antistreptococcique, la phagocytose ne se produit pas : le lapin meurt.

Si on examine au microscope un mélange constitué par de la sérosité péritonéale contenant des leucocytes, une culture de streptocoques et du sérum antistreptococcique on constate que la phagocytose s'y fait hors de l'organisme très rapidement, tandis qu'elle ne se fait pas, si dans le mélange on a substitué du sérum d'animal normal au sérum antistreptococcique.

Concluons donc que l'*immunité passive antimicrobienne dépend essentiellement de la phagocytose, comme l'immunité active antimicrobienne.* Chez les sujets immunisés (activement ou passivement), la phagocytose se produit pour un microbe qui échappe à l'englobement par les leucocytes chez l'animal neuf — ou bien, elle se produit plus rapidement et plus complètement que chez l'animal neuf, toutes conditions étant égales.

Ces recherches poursuivies avec les sérums antimicrobiens (nous pourrions les répéter avec les sérums anticholérique, antityphique, antipneumococcique, antipyocyanique, etc.), montrent que les sérums d'animaux immunisés peuvent conférer l'immunité à l'animal auquel on les injecte (au moins pour un temps court). Ces sérums renferment donc quelque substance apte à jouer un rôle dans l'établissement de l'immunité.

Cette substance n'est pas une substance microbicide, nous l'avons dit et répété, il est inutile d'y revenir.

Plusieurs hypothèses se présentent ici à l'esprit. *Dans tout acte de phagocytose, il y a deux éléments à considérer, le microbe phagocytable et le leucocyte phagocyte.* On peut supposer que la substance du sérum antimicrobien dont nous nous occupons agit sur le leucocyte pour exalter son pouvoir phagocytaire, ou bien qu'elle agit sur le microbe pour le modifier et le rendre plus phagocytable; à moins qu'elle n'agisse à la fois sur les deux éléments.

Les *leucocytes de l'animal* activement ou passivement *immunisé* diffèrent-ils, au point de vue de leur action phagocytaire, des *leucocytes de l'animal neuf* de même espèce? Interrogeons l'expérience.

Dans le péritoine d'un lapin, injectons un peu de bouillon, puis, 12 à 24 h. plus tard, retirons un peu de l'exsudat péritonéal. Centrifugeons, pour provoquer le dépôt des leucocytes, lavons ces leucocytes et centrifugeons alternativement plusieurs fois. Ces leucocytes étant ainsi obtenues, on les mélange à une culture microbienne, et, en goutte pendante observée au microscope, on suit la phagocytose qui s'y produit. On constate que l'activité phagocytaire de ces leucocytes est la même qu'ils proviennent d'un animal neuf, ou d'un animal immunisé soit contre le microbe utilisé dans l'essai, soit contre tout autre microbe. Ainsi les leucocytes d'un lapin neuf, les leucocytes d'un lapin immunisé contre la bactéridie et les leucocytes d'un lapin immunisé contre le streptocoque, mélangés à une culture diluée de streptocoques, toujours la même, se comportent de même : la phagocytose est insignifiante partout. Mais si à ces trois mélanges on ajoute la même quantité de sérum antistreptococcique, la phagocytose se produit considérablement accélérée partout, et également bien quelle que soit l'origine des leucocytes.

Des trois hypothèses que nous formulions, deux disparaissent nécessairement, à la suite de ces observations; une seule demeure : *le sérum antimicrobien renferme une substance capable de modifier le microbe correspondant et de le rendre plus aisément phagocytable.* On peut d'ailleurs démontrer directement cette proposition.

Mélangeons du sérum antistreptococcique et des leucocytes lavés, puis. après les avoir laissés en contact 1 h. p. ex., centrifugeons et lavons le dépôt à l'eau salée, pour éliminer totalement le sérum antistreptococcique : les leucocytes ainsi traités montrent vis-à-vis des streptocoques une activité phagocytaire faible. — Mélangeons du sérum antistreptococcique et une culture de streptocoques, puis, après les avoir laissés en contact 1 h. p. ex., centrifugeons et lavons le dépôt microbien à l'eau salée pour éliminer totalement le sérum antistreptococcique : les streptocoques ainsi traités sont très rapidement phagocytés par une suspension de leucocytes (d'origine quelconque, animal neuf, ou animal immunisé) dans l'eau salée. Voilà qui prouve que le sérum antistreptococcique agit sur le microbe pour le rendre plus phagocytable et non sur le leucocyte pour le rendre plus phagocytant.

Ces résultats se retrouvent avec la même netteté quand on expérimente avec un microbe quelconque et le sérum antimicrobien correspondant : bacille typhique, bacille pesteux, bactéridie, staphylocoque, vibrions, etc.

Avant de pousser plus loin notre étude, il convient de présenter une remarque. Nous avons toujours employé pour faire l'immunisation et l'essai d'immunité des microbes vivants, capables par conséquent de se multiplier dans l'organisme. Les choses se passent de la même façon si on opère avec des *cadavres microbiens* (pourvu que les microbes aient été tués de certaine façon, p. ex. par une température relativement peu élevée et non à l'ébullition, ou par telle substance toxique et non par n'importe quelle substance toxique). En exposant la question de l'immunisation active, nous avons vu que parfois on recourt aux microbes morts (choléra, peste, bacille typhique) pour la réaliser : l'immunité ainsi acquise est valable contre le même microbe vivant; le sérum des animaux ainsi immunisés favorise la phagocytose des microbes vivants et des microbes morts. On a vérifié ces données en particulier pour les staphylocoques tués à 60°, ou pour les bacilles typhiques tués par chauffage à 65°, ou tués par l'éther, tels qu'on les emploie pour la vaccination antityphique.

La propriété des sérums antimicrobiens de favoriser la

phagocytose est dite *pouvoir opsonique*. Suivant l'habitude qu'on a prise d'attribuer toutes les propriétés des sérums, et chacune d'elles, à une substance particulière, on a dit que *les sérums antimicrobiens contiennent des opsonines*.

Nous avons signalé ci-dessus la présence d'opsonines dans le sérum normal, en étudiant l'immunité antimicrobienne naturelle : nous avons vu que des microbes divers, contenus en goutte pendante dans l'eau salée ou dans un liquide de Locke, sont plus rapidement phagocytés par des leucocytes lavés qu'on ajoute au mélange, dans le cas où ce mélange est additionné d'un peu de sérum normal que dans le cas où il n'en contient pas. Nous avons rapporté cette propriété favorisante du sérum à la présence d'une substance que nous avons appelée opsonine. Ces opsonines (qu'on pourrait appeler *opsonines normales* puisqu'elles se trouvent dans le sérum d'animaux normaux) sont valables pour divers microbes, favorisant aussi bien la phagocytose du bacille typhique que celle du vibrion cholérique, ou de la bactéridie : elles ne sont donc pas spécifiques (à moins qu'on prétende, ce qui paraît assez peu vraisemblable, que le sérum en renferme un grand nombre, un nombre aussi grand que le nombre des microbes phagocytables). Ces opsonines normales sont détruites par chauffage du sérum 1 h. à 60° ; elles disparaissent assez rapidement d'un sérum aseptiquement conservé au laboratoire.

Dans les sérums d'immunisés, nous retrouvons des opsonines, puisqu'ils favorisent la phagocytose (comme le font les sérums normaux et beaucoup plus que les sérums normaux). Pour rappeler leur origine, nous appelons celles qui existent dans les sérums normaux, opsonines normales et celles qui existent dans les sérums d'immunisés, *immunopsonines*.

Un sérum d'immunisé est *doublement opsonisant* : comme tout sérum, il renferme une opsonine normale non spécifique, agissant donc sur un grand nombre de microbes, assez modérément du rêste ; mais il renferme en outre une immunopsonine spécifique, agissant sur le seul microbe contre lequel a été réalisée l'immunité du fournisseur de sérum, et agissant très énergiquement (il suffit souvent de très minimes quantités d'immunsérum pour développer l'opsonisation).

Nous avons déjà trouvé dans les immunsérums des précipitines et agglutinines, et des sensibilisatrices (bactésriolye et hématolyse). Doit-on ajouter à la liste de ces

anticorps un nouvel élément, l'opsonine, ou bien cette opsonine est-elle l'un des anticorps déjà nommés, auquel serait dévolue une double fonction, p. ex. la fonction agglutinante et la fonction opsonique, ou la fonction sensibilisatrice et la fonction opsonique?

Si on chauffe à 55° un immunsérum, son pouvoir opsonisant spécifique s'affaiblit considérablement (sans pourtant disparaître complètement). Or, à 55° aussi, l'alexine du sérum est détruite. Une idée s'impose : l'alexine du sérum interviendrait-elle dans l'opsonisation? Et cette question se pose : l'*opsonisation spécifique,* comme la bactériolyse ou l'hématolyse spécifiques, *serait-elle la conséquence de l'intervention de deux agents,* l'un thermostabile, spécifique, n'existant que dans les immunsérums et non dans les sérums normaux (correspondant à la sensibilisatrice bactériolytique ou hématolytique); l'autre thermolabite (détruit à 55°), existant dans tout sérum, immunsérum et sérum normal, l'alexine?

Voici un immunsérum possédant un pouvoir opsonisant considérable pour la bactéridie. Nous le chauffons à 55° et vérifions que ce pouvoir est sinon totalement aboli, au moins considérablement atténué. Or il suffit d'ajouter à ce sérum désactivé (au moins presque complètement désactivé) du sérum frais alexique, pour lui rendre dans sa plénitude son pouvoir opsonisant. Cette réactivation d'un sérum opsonique, désactivé à 55°, par un sérum frais alexique quelconque, c'est l'image exacte de la réactivation d'un sérum bactériolytique ou hématolytique, désactivé à 55°, par un sérum frais quelconque.

L'opsonine, comme la bactériolysine ou l'hématolysine, est donc un agent double, comprenant *un élément équivalent à la sensibilisatrice et un élément équivalent à l'alexine.*

Poursuivons *la comparaison* que nous venons d'amorcer *entre l'opsonisation et l'hématolyse ou la bactériolyse :*

Nous avons reconnu ci-devant que, dans la bactériolyse et l'hématolysele, microbe ou l'hématie fixent la sensibilisatrice, et, par suite, la font disparaître du milieu ambiant. Si, dans un immunsérum chauffé à 55°, nous laissons séjourner pendant quelques heures des microbes

correspondants, si nous les en séparons ensuite par centrifugation, la liqueur sérique a perdu sa sensibilisatrice opsonique, car, si nous lui ajoutons du sérum frais alexique, elle n'exerce aucun pouvoir opsonique sur des microbes correspondants qu'on y introduirait. Les choses se sont passées comme elles se passent en bactériolyse.

Nous avons reconnu ci-devant que, dans la bactériolyse et l'hématolyse, le microbe ou l'hématie ayant fixé la sensibilisatrice (en sérum désactivé à 55°) présentent la bactériolyse ou l'hématolyse quand on les plonge dans du sérum frais alexique. Si des microbes sont immergés dans un sérum opsonisant correspondant, chauffé à 55°, et si, après un séjour de quelques heures, ils en sont séparés par centrifugation, on constate que, mis en suspension dans un sérum frais alexique quelconque, ils se montrent aussi puissamment phagocytables que s'ils avaient été immergés dans un sérum opsonisant complet. Les choses se sont passées comme elles se passent en bactériolyse.

Nous avons reconnu en bactériolyse et hématolyse que toute cause capable d'enlever à un sérum son alexine (chauffage à 55°, ou toute autre cause) lui enlève son pouvoir bactériolytique ou hématolytique, s'il en possédait quelqu'un, et lui enlève aussi la propriété qu'il possédait de réactiver un sérum bactériolytique ou hématolytique désactivés à 55°, s'il était sérum normal. Nous retrouvons les faits équivalents en opsonisation : il suffira de noter que l'immersion d'hématies sensibilisées, ou de microbes sensibilisés, ou d'un précipité spécifique dans un sérum fortement opsonique lui enlève son pouvoir opsonique, et aussi la propriété qu'il avait de réactiver un sérum opsonique désactivé à 55°. Les choses se sont passées comme elles se passent en bactériolyse.

Enfin, en étudiant les diverses humeurs de l'organisme, on a reconnu qu'elles sont de qualité égale pour réactiver un sérum bactériolytique ou hématolytique ou un sérum opsonique désactivés à 55° : les sérums possèdent très nettement cette propriété, les liquides d'œdème par compression la possèdent très faiblement indiquée ; l'humeur aqueuse ne la possède pas.

L'identité de la bactériolyse et de l'opsonisation est donc *absolue,* ou plus exactement *presque absolue*, car il y a une différence : le chauffage à 55° supprime totalement les pouvoirs bactériolytique et hématolytique; il affaiblit considérablement, mais non pas complètement, le pouvoir opsonique. Donc, dans la bactériolyse et dans l'hématolyse, nous n'avions à considérer qu'une action résultant de la fixation de la sensibilisatrice et de la consommation

d'alexine, tandis que, dans l'opsonisation spécifique, il convient de considérer en outre une action complémentaire, dont l'étude n'est ni faite, ni même amorcée. Toutefois, comme dans l'opsonisation spécifique, la part qui revient à la première action est prépondérante (le chauffage à 55° réduisant considérablement le pouvoir opsonique), tandis que la part qui revient à l'action complémentaire est minime ; nous ne retiendrons que la première et négligerons la seconde. Dans ces conditions tout au moins, nous allons pouvoir identifier les mécanismes de la bactériolyse, de l'hématolyse et de l'opsonisation.

Dans les trois cas, *le microbe ou l'hématie fixe une sensibilisatrice*, et, après cette fixation, *devient capable de consommer l'alexine*. Alors cet élément traduit ses *aventures biochimiques* (nous entendons par là les actions successives auxquelles il a pris part) soit par un phénomène de bactériolyse, soit par un phénomène d'hématolyse, soit par cette propriété qu'il présente d'être facilement phagocyté.

La sensibilisation spécifique qui conduit à la bactériolyse et la sensibilisation spécifique qui conduit à l'opsonisation sont-elles les mêmes, ou devons-nous en distinguer deux? On ne saurait répondre à cette question de façon positive et définitive. Mais à quoi bon multiplier le nombre des substances hypothétiques, parmi lesquelles nous évoluons? N'est-il pas aussi simple d'imaginer *qu'il existe une seule sensibilisatrice spécifique,* car, en vérité, tout semble bien se passer comme s'il n'y en avait qu'une.

Nous avons reconnu, en étudiant la bactériolyse, que la bactériolyse proprement dite, c'est-à-dire la transformation morphologique du microbe par un immunsérum correspondant ne se produit pas toujours : nous l'avons notée pour les vibrions et les spirilles, et vaguement indiquée pour quelques autres microbes ; mais elle ne se produit pas pour la bactéridie, le streptocoque, le staphylocoque, le bacille diphtérique et beaucoup d'autres, disons pour la majorité des microbes. Pourtant ces microbes non bactériolysables ont la propriété de fixer la sensibilisatrice spécifique, quand on les immerge dans l'immunsérum correspondant, et de consommer l'alexine. D'ailleurs, ces microbes ne subissent

aucune transformation morphologique, aucune atténuation de leur vitalité ou de leur pouvoir pathogène ; si bien que le phénomène de consommation (ou comme on dit souvent de fixation) de l'alexine, dont nous nous sommes occupés jadis, nous apparaîtrait comme une simple curiosité, une bizarrerie scientifique, si justement il ne se trouvait que le microbe ainsi traité, a acquis la propriété d'être aisément phagocyté. Voilà qui nous révèle *la vraie signification du phénomène de fixation de la sensibilisatrice et de consommation d'alexine* : c'est une *préparation à la phagocytose;* c'est un *acte de défense* de l'organisme, c'est un *acte d'immunité.* Les autres phénomènes, et notamment la transformation granuleuse des vibrions, ne sont que des accidents, dont nous avons tiré largement profit pour développer nos connaissances et notre technique, mais ce ne sont que des accidents : ils ne se produisent que pour quelques microbes particulièrement fragiles et ne jouent pas un rôle nécessaire à l'immunité.

Les immunsérums antimicrobiens présentent ainsi deux qualités essentielles : ils sont *agglutinants* et *opsonisants* (nous ne parlons plus de leur pouvoir bactériolytique). Nous venons d'indiquer le rôle capital du pouvoir opsonique dans l'immunité acquise; nous devons nous demander si le pouvoir agglutinant ne remplit pas, lui aussi, un rôle important, ou tout au moins utile.

Il est difficile de répondre à cette question. Les uns ont fait remarquer que tous les sérums d'animaux immunisés ne sont pas toujours agglutinants : cela prouve que l'agglutination n'est pas la condition nécessaire de l'immunité. Les autres ont soutenu l'opinion que l'agglutination est un facteur adjuvant dans l'immunité antimicrobienne et ils citent les faits suivants. A deux animaux de même espèce, inoculons une même quantité d'un même microbe pathogène, soit en suspension homogène dans du bouillon, soit agglutinés par l'immunsérum correspondant ; nous constatons, au moins quand les quantités de microbes injectés ont été heureusement choisies, que le premier animal meurt, tandis que le second résiste : cela ne prouve pas que l'agglutination joue quelque rôle, car l'immunsérum étant à la fois agglutinant et opsonique, on ne saurait attribuer à son pouvoir agglutinant une efficacité qui relève peut-être exclusivement de son pouvoir opsonique.

En un mot, rien ne permet présentement d'attribuer à l'agglutination des microbes une importance capitale, ou même notable, dans la réalisation de l'immunité.

Nous admettrons donc, au moins provisoirement, que *les immunsérums interviennent dans l'immunité par leur pouvoir opsonique.*

Cette conclusion a conduit à rechercher des méthodes pour fixer la grandeur du pouvoir opsonique, élément exclusif de l'immunité selon les uns, élément fondamental selon les autres, élément important de l'aveu de tous.

On en a proposé plusieurs, comme il arrive en général quand aucune n'est satisfaisante. A vrai dire, aucun des procédés indiqués ne mérite de retenir notre attention : tous sont approximatifs, arbitraires et absolument insuffisants ; tout au plus permettent-ils de distinguer entre des pouvoirs opsoniques très distants les uns des autres, et en particulier de reconnaître en un sérum un pouvoir opsonique considérable et en un autre un pouvoir opsonique sensiblement normal. Les résultats sont en tous cas trop incertains et trop peu précis pour rendre d'éminents services au médecin.

Contentons-nous de noter que le pouvoir opsonique (déterminé par l'une ou l'autre des méthodes dont nous disposons actuellement et désigné par l'un ou l'autre des noms qu'on a imaginés, *index phagocytaire, index ou indice opsonique*), généralement faible au début des maladies infectieuses aiguës (pneumonie p. ex.), devient plus ou moins considérable, dépassant très notablement la valeur qu'il présente chez le sujet normal, au moment de l'établissement de la convalescence (crise de la pneumonie, p. ex.). Son accroissement est assurément le témoin d'une immunité qui s'installe dans l'organisme. Cet accroissement se produisant dans le cours d'une maladie aiguë annonce une guérison possible, peut-être probable ; se produisant, quand les symptômes cliniques ont déjà permis de parler de convalescence, il confirme, pour l'homme de laboratoire, le pronostic du clinicien.

Nous avons parlé (p. 328) de tentatives de *vaccinothérapie.* Le but poursuivi dans cette pratique est d'augmenter le pouvoir phagocytaire de l'organisme, en augmentant son pouvoir opsonique vis-à-vis du microbe qui engendre la maladie du sujet. En injectant des staphylocoques tués à 60°, et qui seraient immunisants pour l'animal neuf, justement parce qu'ils feraient apparaître en ses humeurs une immunopsonine, nous nous proposons d'augmenter le pouvoir opsonique du sérum du malade vis-à-vis des staphylocoques.

En pratique, on constate que l'injection des microbes tués abaisse

tout d'abord le pouvoir opsonique spécifique du sérum, s'il en existait un ; puis deux cas peuvent se présenter. 1° Tantôt le pouvoir opsonique ne s'élève pas après l'injection ou, tout au moins, ne dépasse pas la valeur qu'il avait avant l'injection : la vaccinothérapie n'a pas eu l'efficacité escomptée, tout au contraire. 2° Tantôt le pouvoir opsonique, temporairement abaissé, s'élève, dépasse la valeur qu'il avait avant le traitement : la vaccinothérapie a répondu aux espérances qu'on avait mises en elle.

D'une façon générale, la vaccinothérapie est inefficace ou désavantageuse quand les doses de microbes tués qu'on injecte sont grandes ; elle est efficace et salutaire quand les doses sont petites, sans qu'il soit possible à priori de définir exactement les termes grandes et petites.

Dans les cas où la vaccinothérapie est acceptable, il convient d'injecter de très petites doses de microbes tués, d'examiner, au moins approximativement, l'effet de cette première injection sur la puissance opsonique du sang (aussi bien que le permettent les médiocres méthodes actuelles) et, selon qu'on a observé un résultat favorable ou défavorable, d'insister sur le traitement en augmentant lentement et progressivement la dose, ou d'y renoncer.

En tous cas, la vaccinothérapie est singulièrement délicate à manier : 1° parce qu'elle risque d'abaisser la puissance opsonique du sérum, au moins temporairement (ce qui serait désastreux dans le cas d'une maladie microbienne aiguë, ce qui n'est supportable que dans le cas d'une maladie microbienne traînante et de faible gravité) ; 2° parce qu'elle risque de détourner vers le nouveau foyer d'infection une partie des phagocytes qui eussent rendu service en s'attaquant aux microbes vivants de l'infection naturelle.

De tout ce qui précède, il résulte que les immunsérums renferment une sensibilisatrice capable de s'unir au microbe correspondant pour le rendre apte à consommer l'alexine sérique et que, par là, le microbe étant devenu aisément phagocytable, l'immunité est assurée.

Mais cela ne liquide pas le problème de l'immunité acquise : bien des questions restent posées dont nous n'avons pas obtenu la réponse.

Dans la phagocytose, il y a lieu de distinguer 3 phases, l'*afflux leucocytaire*, l'*englobement microbien* et la *bactériolyse intraleucocytaire*.

Chez les animaux immunisés activement ou passivement vis-à-vis d'un microbe, l'afflux leucocytaire est plus précoce et plus considé-

rable que chez les animaux neufs : nous avons démontré que la cause en résidait dans le microbe impressionné par l'opsonine. Mais l'effet produit, à savoir la venue des leucocytes, résulte-t-il de la neutralisation dans les microbes impressionnés d'une substance douée de propriétés chimiotactiques négatives vis-à-vis des phagocytes, ou bien de la production par les microbes impressionnés d'une substance douée de propriétés chimiotactiques positives vis-à-vis des leucocytes ? *Questions posées, non résolues.*

Chez les animaux immunisés activement ou passivement contre un microbe, les microbes correspondants sont englobés presque instantanément et en grand nombre par les leucocytes veuus à leur voisinage, tandis que, chez les animaux non immunisés, l'englobement se fait plus lentement et à coup sûr moins abondamment. S'agit-il là d'une propriété physique du microbe impressionné, apte dès lors à s'accoler aux leucocytes plus intimement, en vertu de quelque viscosité acquise sous l'influence des opsonines ? S'agit-il de quelque suractivité des mouvements amiboïdes des leucocytes, provoqués plus vigoureusement par le microbe impressionné que par le microbe naturel ? *Questions posées, non résolues.*

Chez les animaux immunisés activement ou passivement vis-à-vis d'un microbe, les éléments englobés sont détruits dans le protoplasma leucocytaire comme s'ils étaient désagrégés et dissous en quelque digestion interne plus rapidement qu'ils ne le seraient par les leucocytes chez un animal neuf. Le fait ne saurait être contesté : les observateurs l'ont décrit avec netteté. Mais quelle est la cause de cette suractivité digestive du leucocyte ? Ce n'est pas le leucocyte lui-même qui est modifié dans l'immunité acquise, nous l'avons constaté dans les essais de phagocytose in vitro, en dehors de la présence des sérums ou des immunsérums. Mais doit-on rapporter le fait à ce que le microbe impressionné par l'opsonine est plus aisément attaqué par les liquides digestifs du protoplasma leucocytaire, ou doit-on le rapporter à ce que ces liquides digestifs intraleucocytaires seraient sécrétés plus abondants ou plus actifs sous l'influence du microbe impressionné que sous l'influence du microbe brut ? *Questions posées, non résolues.*

Et puis, nous avons bien constaté que les leucocytes de l'animal immunisé semblent être en tout semblables aux leucocytes de l'animal neuf, mais est-ce à dire que l'immunisation, au moins l'immunisation active, n'a modifié que les humeurs (en augmentant considérablement leur pouvoir opsonique par l'adjonction, au pouvoir opsonique non spécifique normal, de ce pouvoir opsonique spécifique, qui est si fort supérieur à l'autre, qu'on est autorisé à ne tenir compte que de lui) et qu'elle n'a pas exalté le pouvoir leucocyto-générateur des organes dont les phagocytes proviennent. *Questions posées, non résolues.*

Et puis, d'où provient la sensibilisatrice, qui est l'élément spécifique de l'opsonine ? Se produit-elle dans le sérum du fait d'une transformation chimique qu'y subirait quelque élément du protoplasma microbien, ou bien se produit-elle comme une sécrétion de quelque cellule de l'organisme, leucocyte ou autre, à déterminer, auquel cas l'immunisation aurait produit une modification de ce générateur d'opsonine ? *Questions posées, non résolues.*

Et nous n'avons pas épuisé la liste de ces mystérieuses questions, que nous pouvons poser, qu'on résoudra sans doute quelque jour en usant d'ingénieux artifices, mais qu'on n'a pas résolues actuellement.

Le problème du mécanisme de l'immunité acquise avait été posé, il y a un certain nombre d'années sous cette forme : *l'immunité acquise est-elle propriété humorale, est-elle propriété cellulaire?* On entendait par là : l'immunité acquise résulte-t-elle d'une propriété nouvelle acquise par les humeurs de l'organisme immunisé du fait de l'immunisation, grâce à laquelle les microbes seraient tués par les humeurs, ou ne sauraient se développer dans les humeurs d'immunisés? — ou bien l'immunité acquise résulte-t-elle d'une propriété phagocytaire des leucocytes et autres cellules équivalentes, indépendamment de toute modification du milieu, propriété phagocytaire que l'immunisation aurait fait apparaître, ou plus probablement aurait considérablement exaltée?

Les *partisans de la première hypothèse,* d'ailleurs, ne contestaient pas que les leucocytes sont aptes à phagocyter les microbes dans l'organisme immunisé, mais ils estimaient que la phagocytose n'est pas l'acte essentiel de la défense organique, car, d'après eux, elle ne se produit qu'après que les microbes ont été tués par les humeurs : elle correspondait simplement à l'inhumation de cadavres.

Les *partisans de la seconde hypothèse* ne contestaient pas que les humeurs sont parfois bactéricides; mais ils estimaient que ce pouvoir bactéricide (qui ne se présente pas dans toutes les immunisations, ni dans toutes les régions du corps où peut pénétrer le microbe) est lié à la destruction ou à l'altération préalable des leucocytes, comme si ceux-ci exsudaient dans le milieu ambiant (dans les conditions spéciales que vient de créer l'inoculation

microbienne) les agents chimiques normalement contenus dans leur protoplasma et qui assurent la désagrégation et la digestion des microbes quand ils ont été englobés dans les phagocytes.

Les deux conceptions étaient *irréductibles*.

La *première hypothèse* était basée sur quelques observations, desquelles il résulte que, dans quelques circonstances tout au moins (introduction intrapéritonéale du microbe) et pour quelques microbes (vibrion cholérique p. ex.), les microbes inoculés subissent dans l'organisme de l'animal immunisé une destruction très nette, qu'on a appelée bactériolyse. — Nous avons démontré que cette conception n'est pas généralisable, la bactériolyse ne se produisant que pour quelques microbes, et non pour tous les microbes ; la bactériolyse des microbes bactériolysables ne se produisant d'ailleurs pas dans toutes les régions du corps. Et pourtant l'immunité existe même pour les microbes non bactériolysables, et s'il s'agit, de microbes bactériolysables, même s'ils sont inoculés en une région où la bactériolyse ne se produit pas.

La *seconde hypothèse* était basée sur des observations desquelles il résulte : 1° que la phagocytose des microbes inoculés est plus rapide et plus complète chez l'animal immunisé que chez l'animal neuf ; — 2° que toute condition favorisant la phagocytose assure l'immunité, tandis que toute condition diminuant, ou supprimant la phagocytose supprime l'immunité ; — 3° que, dans le cas où il s'agit de microbes bactériolysables et de régions où peut s'accomplir la bactériolyse, il est possible de réaliser telle condition expérimentale dans laquelle la phagocytose se produit avant la bactériolyse, ce qui établit (étant donné qu'en pareil cas l'immunité persiste) que l'immunité n'est pas liée à la bactériolyse préphagocytaire ou extraleucocytaire. — Nous avons démontré que cette conception n'est que partiellement exacte : nous avons établi que les phagocytes de l'animal immunisé sont équivalents aux phagocytes de l'animal neuf, quand ils sont placés dans le même milieu qu'eux, que ce milieu soit de l'eau salée, ou du liquide de Locke, qu'il soit du sérum normal ou du sérum d'immunisé. Nous avons démontré en outre que l'immunité acquise peut être transportée de l'animal activement immunisé à un animal neuf par injection du sérum du premier au second.

Des faits que nous avons exposés, il résulte qu'il y a dans l'immunité acquise une *modification humorale*. Cette modification n'est d'ailleurs pas celle qu'avaient proclamée jadis les partisans de la première hypothèse ; elle ne consiste pas en l'apparition d'un pouvoir bactéricide, mais dans l'apparition d'un pouvoir opsonique. Et c'est là, en

vérité, une *immunité humorale*. Le phagocyte, à coup sûr, accomplit l'*acte décisif de l'immunité*, qui est la *phagocytose*, mais ce qui rend, chez l'immunisé, la phagocytose efficace, alors qu'elle ne l'était pas chez l'animal neuf, ce n'est pas une modification du leucocyte par l'immunisation, c'est une modification du microbe sous l'influence des humeurs, ayant acquis une propriété nouvelle du fait de l'immunisation. *L'immunisation a* en conséquence *un caractère humoral*.

Pourtant, n'ajoutons pas que l'immunité est exclusivement propriété humorale et qu'elle n'est nullement propriété cellulaire. Sans doute, actuellement nous ne possédons pas de documents qui puissent établir sûrement l'existence d'une modification des phagocytes, ou des organes producteurs de phagocytes dans l'immunisation ; mais il convient de réserver l'avenir : les questions posées, non résolues, de tout à l'heure nous y obligent absolument. Nous avons démontré l'existence dans l'immunité acquise d'un élément humoral, et nous avons fait connaître sa nature ; l'avenir nous dira s'il faut lui adjoindre un élément cellulaire, et, dans l'affirmative, quelle en est la nature et quelle en est l'importance.

Nous nous demandions, au début de ce chapitre, si, dans l'immunité antimicrobienne acquise, comme dans l'immunité antitoxique acquise, nous n'avions pas affaire à une propriété humorale nouvelle, si, dans les humeurs des immunisés contre les microbes, nous n'avions pas une substance antimicrobienne, comme dans les humeurs des immunisés contre les toxines nous avons une substance antitoxique. Nous arrivons à une conclusion qui nous permet de répondre affirmativement, mais avec quelques réserves pourtant. Nous sommes dès lors amenés à établir le *parallèle des humeurs de l'animal immunisé contre les toxines et des humeurs de l'animal immunisé contre les microbes*, ou, pour préciser le problème en le déterminant, à établir le *parallèle des sérums antitoxiques et des sérums antimicrobiens*.

Les *sérums antitoxiques* doivent leur propriété à une antitoxine qui, mise en présence de la toxine correspondante, même en liqueurs très étendues, s'unit à elle pour produire un complexe inoffensif pour l'organisme.

Pour que la neutralisation de la toxine soit assurée par le sérum antitoxique, il suffit que la quantité de ce dernier soit suffisante, mais aucune condition supplémentaire n'est à considérer, au moins dans le cas où la toxine est libre et n'a pas encore atteint les éléments sensibles à son action (pour la toxine fixée sur ces éléments, il convient, nous l'avons noté, de distinguer les cas).

Les *sérums antimicrobiens* doivent leur propriété à une opsonine qui, mise en présence du microbe, se fixe sur lui pour le rendre phagocytable, mais (nous l'avons expressément noté) sans lui faire perdre sa vitalité et son pouvoir de multiplication, sans lui faire perdre ou

sans atténuer son pouvoir pathogène. C'est là une différence fondamentale entre les deux catégories de sérums : l'action du premier sur la toxine supprime absolument celle-ci ; l'action du second sur le microbe ne le supprime pas, elle le rend plus facile à supprimer, ce qui est très différent. En effet, la suppression elle-même, qui est accomplie par les leucocytes, est fonction des qualités actuelles de ces leucocytes ; or les leucocytes, éléments vivants, sont éminemment variables comme tout ce qui vit : n'avons-nous pas noté ci-dessus, en faisant l'étude de l'immunité naturelle, que, dans une même phagocytose, tous les leucocytes d'une même variété histologique ne se comportent pas de même, ne manifestant pas tous une même activité phagocytaire. Il n'est donc pas absurde de se demander si, dans telle ou telle immunité, cette variabilité possible de l'agent d'exécution qu'est le phagocyte n'influencera pas, au moins parfois, l'acte de la phagocytose, soit pour l'exalter, soit pour l'atténuer.

P. ex., si, chez un malade présentant une infection streptococcique, on injecte du sérum antistreptococcique, les streptocoques infectants sont opsonisés ; mais les leucocytes de l'organisme malade n'ont-ils pas été modifiés du fait de l'infection, ne sont-ils pas malades, donc affaiblis ? Et s'il y a insuffisance fonctionnelle des leucocytes, n'en résultera-t-il pas que l'efficacité du traitement sérothérapique sera nulle ou atténuée ? Nous posons la question, sans prétendre du reste la résoudre au point de vue strictement expérimental ; mais la pratique sérothérapique dans les maladies infectieuses essentiellement microbiennes répond de façon non douteuse : les sérothérapies antimicrobiennes sont loin d'avoir l'efficacité des sérothérapies antitoxiques.

Quelques personnes, prenant en considération les insuccès parfois constatés dans quelques essais de sérothérapie antimicrobienne, ont dénié toute valeur à la sérothérapie en général : c'est là une opinion inadmissible. Les réflexions présentées ci-dessus permettent de comprendre pourquoi la sérothérapie antimicrobienne n'est pas toujours aussi efficace que la sérothérapie antitoxique.

Nous savons que maintes infections, pour ne pas dire le plus grand nombre des infections, sont à la fois des infections et des intoxications, l'élément infectieux dominant ici (fièvre typhoïde p. ex.), l'élément toxique dominant là (choléra p. ex.). Comme pour immuniser les animaux, on inocule, sinon toujours au moins souvent, des cultures microbiennes (liquide et microbes), l'immunisation est à la fois antimicrobienne et antitoxique ; le sérum de l'animal immunisé est alors à la fois opsonisant et antitoxique. Il importe d'ailleurs ici, comme dans la préparation des sérums antitoxiques purs, de disposer de liquides renfermant une toxine très active pour que le sérum soit le plus antitoxique possible. On se laisse guider pour la

préparation de l'animal fournisseur de sérum par le but qu'on se propose d'atteindre. Si le sérum doit être surtout antitoxique, tout en étant accessoirement antimicrobien, on injecte des microbes sans doute, mais aussi et surtout des toxines, et on s'applique à préparer des cultures microbiennes fournissant les toxines les plus puissantes (soit en utilisant telle race particulièrement toxigène de microbe, soit en choisissant tel milieu de culture, soit en réalisant telle condition de développement). Si le sérum doit être essentiellement antimicrobien, on injecte plus spécialement des corps microbiens, qui seront, suivant les cas, des microbes vivants de races peu pathogènes (vaccins), ou des microbes morts, tués par des moyens qui se seront montrés, à l'essai, les plus convenables. Tout en effet ici est affaire d'empirisme.

Si on injecte dans un organisme malade un sérum antitoxique et antimicrobien, on assurera la neutralisation de la toxine, on opsonisera les microbes : le malade en retirera assurément un bénéfice. Si dans l'affection dont il souffre, l'élément toxique prédomine, la sérothérapie lui rendra un grand service, d'autant plus grand d'ailleurs que l'élément toxique prédomine davantage. Si l'élément infectieux prédomine, la sérothérapie rendra encore service en neutralisant la toxine (et c'est toujours un avantage) et en opsonisant les microbes ce qui est en tout cas bénéfice : mais l'essai seul permettra de savoir si l'opsonisation obtenue est suffisante, non pour améliorer la situation (ce résultat sera à coup sûr acquis), mais pour sauver le malade, ce qui pour le médecin est l'essentiel.

L'effet maximum des sérums antimicrobiens est obtenu quand on les utilise préventivement. Dans ces conditions en effet, ils opsonisent les microbes dès qu'ils pénètrent dans l'organisme, par conséquent à un moment où rien n'a encore agi sur les leucocytes pour les modifier et pour diminuer leur action phagocytaire.

CHAPITRE XVI

LA RESISTANCE DE L'ORGANISME ET LA VIRULENCE MICROBIENNE

SOMMAIRE. — Une comparaison militaire : capacité combattive. — La capacité défensive de l'organisme ou résistance et son inverse ou réceptivité ; la capacité offensive des microbes ou virulence. — Virulence microbienne personnelle ou proprement dite et virulence globale. — De quelques causes intervenant pour modifier la résistance : espèce et race, âge, conditions biologiques et médicamenteuses, conditions pathologiques. — Variations de la virulence. — Indications relatives à la virulence globale et à ses modifications. — Variations de la virulence proprement dite. — Atténuation par le vieillissement, par la chaleur, par la dessiccation, par les antiseptiques, par les passages d'animal à animal, soit de même espèce, soit d'espèces différentes. — Quelques bizarreries constatées dans l'étude de l'atténuation de la virulence. — Exaltation de la virulence par passages d'animal à animal ; virus fixe. — Récupération de la virulence après atténuation. — Peut-on créer la virulence là où elle est totalement absente ? — Les éléments de la virulence : propriété toxigène ; action sur le chimiotaxisme ; agressines et leucocidines ; mobilité bactérienne ; auréoles et gaines défensives et leur importance ; résistance à la digestion intraleucocytaire. — Variations de la résistance et de la virulence en cours d'infection. — L'inflammation locale et ses éléments : vaso-dilatation, exagération de la perméabilité vasculaire, diapédèse. — Suppuration et tubercule. — L'envahissement microbien : l'étape locale, l'étape ganglionnaire, l'étape finale. — Bactériémie et septicémie. — Organotropie. — Exaltation de la virulence du microbe infectant. — La défense renforcée : les opsonines, l'hyperleucocytose. — Les phases de la bataille microbienne ; la décision ; les souvenirs de guerre : notions empiriques.

Lorsque deux armées sont en présence et vont engager la bataille, un homme expert en l'art militaire peut faire des prévisions sur les péripéties et sur l'issue de la lutte qui va se dérouler sous ses yeux. Il base son opinion sur la comparaison des qualités combattives

des deux armées, appréciées en elles-mêmes et en tenant compte des conditions dans lesquelles elles vont avoir à se manifester. Il établit la valeur de l'armée qui tient les positions disputées d'après la nature de ces positions, les moyens de protection dont elles sont pourvues, le nombre et les qualités physiques et morales des hommes qui les occupent, leur armement, leur ravitaillement, le coup d'œil et l'énergie du chef qui les commande, etc. : il groupe toutes ces données et quelques autres encore, malgré qu'elles ne soient pas de même nature en attribuant à chacune d'elles la valeur qu'il juge bon de leur conférer, et il est ainsi en mesure de connaître la valeur militaire actuelle de l'armée de défense, qui pourra être désignée sous le nom de capacité défensive. Il procède de même en ce qui concerne l'armée qui va s'efforcer d'enlever les positions, et retient telles informations qui lui paraissent essentielles pour juger de la valeur d'une troupe d'attaque ; il est ainsi en mesure de connaître sa capacité offensive. En comparant la capacité défensive et la capacité offensive, il pourra, au moins parfois, sinon toujours, émettre une opinion raisonnable sur les phases de la bataille et sur sa terminaison. Sans doute, ces prévisions ne se justifient pas toujours, soit qu'on ait attribué une importance exagérée, ou au contraire insuffisante, à tel élément d'appréciation, soit que quelque incident imprévu se soit produit, ou que telle condition de surprise soit intervenue, qui a transposé la valeur coutumière des données considérées.

Parfois la disproportion des capacités combattives des troupes en présence est telle qu'aucun doute ne saurait subsister sur le sort du combat, parfois au contraire la bataille seule est capable de renseigner sur la force des armées en présence.

Ainsi en est-il dans la lutte qui s'engage entre l'organisme et le microbe : le premier défend sa vie, c'est-à-dire ses positions ; le second s'avance à l'attaque, pour envahir le territoire du premier. Le biologiste a reconnu que la bataille ne s'engage pas toujours : tel microbe n'est pas pathogène pour les animaux d'une espèce donnée, tout en l'étant pour les animaux d'une autre espèce. On dit alors que l'animal est réfractaire à l'infection. Tel autre microbe est capable, au contraire, quand il pénètre dans l'économie d'un animal donné, de développer en lui une maladie : la maladie se révèlera cliniquement plus ou moins prématurée, plus ou moins grave, plus ou moins durable ; elle se terminera par la guérison prochaine ou lointaine, ou par la mort précoce ou tardive. Un homme expert en l'art biologique peut, comme le militaire de tout à l'heure, faire des prévisions sur les péripéties et sur l'issue de la lutte qui va s'engager sous ses yeux. Il base son opinion sur les qualités combattives respectives de l'organisme et du microbe, en tenant compte des conditions dans lesquelles va se dérouler le conflit. Il connaît, pour en avoir fait l'étude métho-

dique dans des conditions expérimentales favorables, les divers moyens dont dispose chacun des adversaires ; il connaît l'influence que peuvent exercer sur ces moyens les conditions dans lesquelles ils interviendront ; il groupe, coordonne, oppose ces derniers et fixe alors la valeur combattive de l'organisme ou du microbe, la capacité défensive de l'un, la capacité offensive de l'autre ; la comparaison de ces capacités permet parfois, sinon toujours, de faire des prévisions raisonnables. Parfois aussi, comme à la guerre, quelque incident imprévu, quelque condition nouvelle vient modifier les valeurs et bouleverser les pronostics ; souvent, seule l'observation de l'évolution de l'infection est capable de nous renseigner exactement sur les forces respectives des combattants qui s'affrontent.

La *capacité défensive d'un organisme* vis-à-vis d'un microbe pathogène est appelée *résistance*, et on distingue une *résistance absolue* (quand le microbe ne provoque aucun accident chez l'animal inoculé) et une *résistance relative* (quand il y a des accidents atténués). La résistance relative est d'ailleurs plus ou moins grande, plus ou moins durable, plus ou moins efficace.

On parle aussi de *réceptivité*, ce qui est l'inverse de la résistance : on désigne en effet sous ce nom la propriété que possède un organisme de contracter une maladie du fait de l'invasion microbienne, et on considère des réceptivités grandes ou petites, etc. On pourrait dire, si l'on se sentait vraiment autorisé à employer en ces questions le langage des mathématiciens, que *la résistance est en raison inverse de la réceptivité.*

La *capacité offensive* d'un microbe est dite *virulence.* Comme la résistance et la réceptivité du reste, *la virulence est une résultante.* Pour la déterminer il conviendrait de tenir compte des divers éléments qui la constituent (et dont nous étudierons quelques-uns ci-dessous) et d'attribuer à chacun d'eux un coefficient convenablement choisi et un signe selon le sens des variations présentées par l'élément de virulence donnée.

Nous reconnaîtrons ci-dessous que deux facteurs conditionnent la virulence : l'un que nous appellerions volontiers la *virulence microbienne personnelle,* et qui est une qualité propre au microbe, tout à fait indépendante de telle ou telle substance inoculée en même temps que le

microbe, tout à fait indépendante aussi des conditions dans lesquelles est pratiquée l'inoculation ; — l'autre qui représente, dans la *virulence globale,* tout ce qui n'est pas la part personnelle de l'élément microbien. Ces notions seront précisées ci-dessous.

La résistance des organismes à l'infection correspondant à un microbe donné, toujours le même, est *fonction de l'espèce animale.*

Nous en avons déjà donné des exemples. La poule et le lapin présentent une grande réceptivité pour le microbe du choléra des poules qui engendre chez eux une maladie rapidement mortelle. Le cobaye présente une résistance très nette à ce même microbe, qui ne détermine chez lui qu'un petit abcès au point d'inoculation. La vache est douée d'une grande réceptivité pour la bactéridie, tandis que le chien est remarquablement résistant. La réceptivité des moutons des races françaises pour la bactéridie est considérable, celle des moutons des races algériennes est faible.

Nous avons expressément noté ci-dessus (p. 283) qu'il n'y a pas d'espèce universellement très résistante, ni d'espèce universellement très réceptive. Les exemples abondent d'espèces qui sont tout à la fois très résistantes vis-à-vis d'un microbe et très réceptives pour un autre microbe, alors que des espèces voisines sont, tout au contraire, très réceptives pour le premier microbe et très résistantes vis-à-vis du second. L'expérience seule peut, dans chaque cas particulier, nous renseigner sur les réceptivités et sur les résistances des espèces vis-à-vis des divers microbes pathogènes.

La résistance d'un organisme à une infection microbienne donnée est parfois *fonction de l'âge* de l'animal en expérience.

L'exemple le plus remarquable est celui de l'infection bactéridienne du cobaye. Il existe telle variété de bactéridie qui tue fort bien le cobaye de 2 ou 3 jours, qui provoque une maladie sérieuse chez le cobaye de 8 jours, des accidents légers chez le cobaye de 2 semaines, et qui est inoffensive pour le cobaye adulte : la réceptivité du cobaye diminue à mesure qu'il avance en âge.

La résistance d'un organisme à une infection microbienne donnée peut être *fonction des conditions biologi-*

ques ou médicamenteuses auxquelles est soumis l'animal.

Nous avons noté que la poule, réfractaire au charbon, contracte la maladie quand elle a été refroidie de quelques degrés au-dessous de sa température normale. Nous avons noté que tel animal se montre réceptif ou résistant vis-à-vis du vibrion cholérique selon qu'il a reçu ou n'a pas reçu une injection d'opium.

La résistance d'un organisme à une infection microbienne donnée est souvent modifiée par l'existence d'une *autre infection microbienne*, évoluant dans l'organisme considéré.

Le bacille tétanique inoculé seul a peu de chances de se développer ; il le fait quand on l'associe à divers microbes pathogènes ou non-pathogènes. Le microbe du charbon symptomatique n'est pas pathogène pour le lapin, mais il le devient si on lui ajoute du Prodigiosus, lui-même inoffensif.

Voici le chien, qui est réfractaire à l'inoculation sous-cutanée de la bactéridie charbonneuse ; il prend pourtant le charbon à la suite d'une telle inoculation et succombe très rapidement, en présentant les symptômes du charbon, si, au moment de l'inoculation charbonneuse, il est enragé. — Voici un malade qui a la scarlatine : les infections streptococciques s'installent chez lui plus aisément que chez qui que ce soit et provoquent des accidents d'une gravité considérable. – Voici un autre malade qui a une diphtérie mixte, c'est-à-dire que, dans les fausses membranes, on trouve à la fois le bacille diphtérique et un autre microbe pathogène, le streptocoque, p. ex. : la maladie diphtérique présente un caractère beaucoup plus sévère. Les exemples pourraient être facilement multipliés.

Nous avons montré antérieurement comment la réceptivité d'un animal pour une infection microbienne donnée est diminuée et peut être supprimée par la *préparation d'immunité* et nous avons précisé le mécanisme, ou plus exactement quelques-uns des mécanismes de cette résistance accrue. Nous avons reconnu d'ailleurs qu'en procédant à l'immunisation avec prudence et réserve, en choisissant des vaccins de très minuscule pouvoir pathogène, nous pouvions, avec une assez remarquable précision, développer dans l'organisme d'un animal tel degré d'immunité qu'il nous plaisait d'obtenir ; c'est-à-dire diminuer

à notre gré la réceptivité d'autant que nous voulions, ou augmenter la résistance de telle fraction de sa valeur qu'il nous plaisait de fixer. Nous savons, d'autre part, que, l'immunité étant une fois réalisée, si l'animal est abandonné à lui-même, cette immunité diminue progressivement jusqu'à disparaître, ce qui demande, selon l'infection considérée, des semaines ou des mois, des années ou des dizaines d'années: pendant toute cette période de retour à l'état normal, la résistance diminue régulièrement, la réceptivité augmente régulièrement.

Nous distinguions tout à l'heure la virulence microbienne globale et la virulence microbienne personnelle ou proprement dite : quelques précisions ne seront pas inutiles. Etant donné une culture microbienne, nous pourrons avec elle obtenir, ou ne pas obtenir l'infection, selon que nous en inoculerons une dose considérable ou une dose modérée, selon que nous l'inoculerons seule ou que nous combinerons son inoculation avec celle de quelque autre culture, selon que nous utiliserons comme matériel d'injection une culture en bouillon ou une culture en gélose, selon que nous pratiquerons l'inoculation en telle région de l'organisme ou en telle autre.

Voici p. ex. le mouton algérien qui est résistant vis-à-vis de la bactéridie charbonneuse inoculée en quantité moyenne; nous pouvons pourtant provoquer chez lui le charbon, en augmentant la quantité inoculée, et un charbon d'autant plus grave que plus grande est la quantité injectée. Voici le cobaye qui est généralement résistant vis-à-vis du bacille tétanique quand on inocule celui-ci dans son tissu cellulaire sous-cutané en culture pure, mais qui manifeste une grande réceptivité quand on inocule dans la même région sous-cutanée, la même quantité de la même culture tétanique tout à l'heure inoffensive, additionnée d'une petite quantité d'une culture des treptocoque ou de staphylocoque : le tétanos éclate alors avec ses caractères typiques et la mort se produit avec toutes les apparences de la mort tétanique. Voici le lapin qui est réfractaire au microbe qui, chez les bovidés et ovidés, engendre le charbon symptomatique, mais qui manifeste une grande réceptivité pour ce microbe si on l'inocule associé à quelque autre microbe convenablement choisi, ce dernier pouvant être inoffensif pour le lapin comme p. ex. le micrococcus prodigiosus. — Notons d'ailleurs incidemment que si ces associations microbiennes exagèrent généralement la virulence globale de l'inocu-

lation, il y a quelques cas inverses, dans lesquels, tout au contraire, cette virulence globale est diminuée ; c'est ce qui se produit quand on inocule simultanément au lapin le bacille charbonneux et le bacille pyocyanique : l'animal résiste dans ces conditions à la maladie charbonneuse, sinon toujours, au moins assez souvent, tandis que l'inoculation de la seule bactéridie est régulièrement mortelle.

Nous avons noté (p. 306) que le bacille tétanique inoculé en culture dans le bouillon chez le cobaye est inoffensif; il détermine au contraire un tétanos typique mortel, si on insère sous la peau du cobaye un fragment d'une culture tétanique en milieu gélosé, donc solide.

Enfin nous avons noté (p. 325) que la vache résiste à l'inoculation d'un liquide péripneumonique de bovidés quand ce liquide est injecté sous la peau de l'extrémité de la queue, présentant simplement des accidents locaux, tandis qu'elle contracte une péripneumonie mortelle si l'inoculation a été faite sous la peau du flanc.

Voilà donc diverses conditions d'inoculation (dose de culture, culture pure ou mixte, nature du microbe adjoint, région d'inoculation) qui influencent la virulence globale de la culture microbienne ; et, sans doute, il serait possible d'en indiquer encore quelques autres.

Nous allons maintenant examiner les causes qui peuvent modifier la *virulence personnelle,* ou *proprement dite d'un microbe,* c'est-à-dire celle qui relève d'une modification n'intéressant que le microbe lui-même. Nous en distinguerons deux catégories, les unes qui ont pour conséquence de diminuer ou d'atténuer la virulence, les autres qui ont pour conséquence de l'augmenter ou de l'exalter.

Nous avons eu l'occasion d'indiquer, en traitant des vaccinations, divers procédés permettant d'atténuer la virulence des microbes.

Les microbes peuvent être atténués par *le vieillissement de leur culture,* dans des conditions convenables que révèle leur étude méthodique. Nous en avons donné des exemples typiques pour le microbe du choléra des poules (p. 312), pour la bactéridie charbonneuse (p. 315) pour le microbe de la rage (p. 318).

Les microbes peuvent être atténués par l'*action d'antiseptiques* utilisés dans des conditions et à des doses convenables que révèle une étude spéciale.

Les microbes enfin peuvent être atténués par *passage*

de l'organisme d'un animal dans l'organisme d'un autre animal convenablement choisi : il y a là une question d'empirisme pur, car rien ne permet à priori de dire si un tel transport atténuera, respectera, ou exaltera sa virulence.

Si on inocule au niveau de la peau scarifiée chez la génisse ou chez le singe du *pus variolique humain*, on obtient une éruption pustuleuse, dont le pus peut être reporté sur d'autres animaux de même espèce : après quelques passages, le liquide séro-purulent qu'on peut recueillir étant reporté sur l'homme ne produit pas la variole, mais une éruption bénigne ayant les caractères de la vaccine. Le microbe variolique de l'homme s'est donc atténué pour l'homme par passages chez le singe ou la vache.

Le *bacille du rouget du porc*, qu'on peut retirer du sang des porcs atteints de cette maladie, et obtenir en culture pure, étant inoculé chez le lapin détermine chez celui-ci une maladie rapidement (3 à 6 jours) mortelle.

Or si on transporte le microbe de lapin à lapin, on peut reconnaître, après quelques passages, que sa virulence est atténuée pour le porc, et de plus en plus atténuée à mesure qu'augmente le nombre des passages de lapin à lapin, si bien qu'il est possible d'obtenir ainsi des vaccins pour le porc, et notamment les deux vaccins pasteuriens, grâce auxquels on a pu réaliser l'immunité de ces animaux.

La *moelle rabique* inoculée en série à des lapins s'atténue progressivement pour le singe et pour l'homme. Etc.

Quelques remarques importantes peuvent être présentées ici.

1° Lorsque, par la méthode des passages par l'organisme d'animaux d'une espèce convenablement choisie, on obtient l'atténuation d'une virulence microbienne, cette atténuation n'est pas nécessairement universelle, c'est-à-dire ne vaut pas nécessairement pour toutes les espèces animales réceptives pour le microbe considéré.

Le microbe du rouget du porc transporté de lapin en lapin présente une virulence de plus en plus atténuée pour le porc ; mais non pour le lapin : tout au contraire, sa virulence pour le lapin s'exalte, car la mort du lapin inoculé est d'autant plus précoce que le nombre des passages sur lapins a été plus grand.

2° Lorsque par la méthode des passages par l'organisme d'animaux d'une espèce donnée, on obtient l'atténuation de la virulence d'un microbe, on n'obtient pas nécessairement la même atténuation en pratiquant les passages sur des animaux d'une autre espèce également réceptrice.

Conservons le même exemple. Le microbe du rouget du porc s'atténue pour le porc par passages répétés chez le lapin. Inoculons à un pigeon du sang d'un porc qui vient de succomber à la maladie : le pigeon réceptif contracte une maladie mortelle. Inoculons le sang de ce pigeon à un second pigeon et ainsi de suite. Au bout de quelques passages (4 à 5 suffisent), on constate que la virulence du microbe a augmenté pour le porc (nous venons de noter qu'elle s'atténuait quand les passages étaient faits chez le lapin) comme pour le pigeon.

De tels résultats (qui ne sont pas d'exceptionnelles raretés) seraient déconcertants pour qui voudrait prévoir, avant l'essai, le résultat que peut fournir une série de passage sur animaux d'une espèce donnée : tout ici relève de l'empirisme et les résultats les plus inattendus se présentent perpétuellement. Un jour viendra peut-être où toutes ces bizarreries recevront une explication satisfaisante ; mais actuellement nous sommes en pleine anarchie.

3° C'est encore une bizarrerie que cet étonnant désordre qu'on peut constater dans la suppression de la virulence sous l'influence de causes dissemblables, et dont voici un exemple typique.

Quand on maintient la bactéridie à 42°,5 on l'atténue : on peut constater la suppression de sa virulence successivement pour le bœuf, pour le mouton, pour le lapin, pour le cobaye, pour la souris. Quand la bactéridie cesse d'être virulente pour le bœuf, elle est encore virulente pour le mouton ; quand elle cesse d'être virulente pour le mouton, elle est encore virulente pour le lapin et pour le cobaye (elle tue encore le lapin et le cobaye, alors qu'elle est devenue tout à fait inoffensive pour le mouton, si inoffensive qu'elle ne le vaccine même pas). — Si on atténue la bactéridie par action du bichromate de potasse, la virulence pour le lapin et pour le cobaye disparaît avant la virulence pour le mouton, et on obtient des bactéridies capables de tuer des moutons, ou tout au moins d'engendrer chez eux un charbon très grave, tout en étant inoffensives pour le lapin et pour le

cobaye, si inoffensives que non seulement elles ne provoquent pas d'accidents, mais même qu'elles ne vaccinent pas.

Quelle apparente incohérence, n'est-il pas vrai !

L'immunité antimicrobienne est fonction de la phagocytose, nous l'avons démontré. Quand on inocule un microbe pathogène atténué, la phagocytose se fait plus rapide et plus complète, toutes conditions égales, que si on inocule le même microbe non atténué. Or nous avons vu que le microbe pathogène soumis à l'action du sérum antimicrobien correspondant est plus rapidement et plus complètement phagocyté, toutes conditions égales, que s'il n'avait pas subi l'action d'un tel sérum. Au point de vue de l'infection, le microbe atténué par l'un des procédés que nous avons indiqués et le microbe opsonisé (traité par l'immunsérum correspondant) sont donc équivalents : leur pouvoir pathogène, leur virulence est atténuée. Et l'on serait tenté d'ajouter à la liste des agents atténuateurs les sérums antimicrobiens. Pourtant une différence fondamentale existe entre les deux catégories de microbes. Si on cultive sur milieu convenable le microbe atténué, en pratiquant de fréquents réensemencements, il conserve sa virulence atténuée sans modification. Si on cultive de même le microbe opsonisé, il ne tarde pas à reprendre sa virulence primitive, celle qu'il présentait avant le traitement par le sérum antimicrobien. Pour bien marquer cette différence, il conviendrait de parler d'*atténuation réelle* (par vieillissement, par action des antiseptiques, par passages) et d'*atténuation apparente* (par sérum antimicrobien).

La *virulence microbienne* peut être *augmentée ou exaltée* par divers procédés, dont le plus efficace sans doute et le plus fréquemment utilisé consiste à pratiquer une série de *passages sur des animaux convenablement choisis :* c'est là l'une des méthodes qui tout à l'heure nous permettait d'atténuer les microbes : l'expérience a montré que, selon l'espèce sur laquelle se fait le passage, on provoque l'atténuation, ou l'exaltation de la virulence du microbe.

Le *microbe du rouget du porc* inoculé au lapin le tue en 5 à 6 jours quand il provient d'un porc qui vient de succomber à la maladie. Par passages successifs chez le lapin, sa virulence augmente pour le lapin, qui est tué de plus en plus rapidement par lui. Mêmes faits pour le pigeon, quand les passages se font de pigeon à pigeon.

Nous avons noté des faits équivalents en inoculant la moelle rabique en série à des lapins, pour obtenir finalement le virus fixe, notablement plus virulent que la moelle primitive (p. 319).

Si on inocule sous la peau du lapin une *culture de streptocoque* provenant d'une longue série de réensemencements sur bouillon, on constate qu'elle est peu virulente pour lui, et que, pour tuer cet animal, il faut injecter une assez grande quantité de la culture. Si on inocule la culture à un premier lapin en quantité suffisante pour le tuer, puis le sang de ce premier lapin à un second lapin et ainsi de suite, on reconnaît que la virulence du streptocoque croît continuement et rapidement d'un passage au suivant, jusqu'à atteindre une valeur considérable : on peut en effet obtenir un streptocoque, dont la culture tue le lapin à la dose de 0 c. c. 000001.

Il peut arriver qu'en choisissant l'animal sur lequel on fait les passages (et qui peut différer de celui vis-à-vis duquel on étudie la virulence du microbe), on *exalte la virulence au delà des limites qui semblaient ne pas pouvoir être dépassées.*

La virulence du *microbe du rouget du porc* est exaltée pour le porc et pour le pigeon par passages chez le pigeon. Quand le microbe est devenu virus fixe pour le pigeon (c'est-à-dire quand sa virulence pour le pigeon n'augmente plus, malgré qu'on continue la série des passages sur pigeons), sa virulence pour le porc est de beaucoup supérieure à celle qu'il peut présenter en passant de porc à porc, sans jamais quitter cette espèce animale (comme il arrive en cours d'épidémie).

La *bactéridie* n'est pas virulente pour le chien, au moins quand on l'inocule à dose moyenne ; mais elle est virulente pour le chien enragé (p. 308). Reportée de ce chien enragé mort charbonneux sur un chien normal, elle se montre virulente pour lui-même à dose moyenne : le passage dans l'organisme du chien enragé a donc surexalté sa virulence.

Ces résultats autorisent à supposer que si, par un procédé quelconque, on a atténué la virulence d'un microbe, on pourra sans doute exalter cette virulence, faire *récu-*

pérer au microbe *sa virulence antérieure,* et peut-être même la dépasser en usant de la méthode des passages, convenablement réglés et suffisamment répétés chez des animaux judicieusement choisis. L'expérience vérifie ces prévisions.

En cultivant la *bactéridie* à 42°,5, on obtient après 7 jours un microbe qui n'est plus virulent pour le mouton, le lapin, le cobaye adulte ou jeune ; seul le cobaye naissant est réceptif pour elle. Inoculons cette bactéridie au cobaye d'un jour, et quand il succombe au charbon qui s'est développé en lui, inoculons un peu de son sang à un autre cobaye d'un jour, puis continuons les passages sur cobayes d'un jour : la maladie s'aggrave, l'évolution se précipite à mesure que nous renouvelons l'essai ; bientôt la bactéridie peut tuer le cobaye de 2 à 3 jours, puis celui de 8 jours, celui de 15 jours, le cobaye adulte enfin, puis le lapin et finalement le mouton.

La *virulence est donc une qualité éminemment variable et plastique,* que nous pouvons (à condition de posséder une documentation suffisante, que seule la pratique empirique nous permet d'acquérir) modeler à peu près complètement à notre gré.

Une réserve pourtant. Supposons que nous poussions encore plus loin que nous l'avons fait l'atténuation de la bactéridie ; elle perd sa virulence même pour le cobaye d'un jour. Comme cet animal est le plus sensible que nous connaissions, nous pouvons dire que la bactéridie n'est plus pathogène : elle est rentrée dans le groupe, si abondamment pourvu d'espèces, des microbes banals, inoffensifs ; c'est pourtant une bactéridie, car elle en a tous les caractères morphologiques, histologiques, chimiques ; seule la virulence lui manque. Peut-on la lui rendre ? Les tentatives faites pour y réussir n'ont pas abouti : tout nous conduit à penser que, pour pouvoir récupérer sa virulence, la bactéridie doit encore être virulente, si peu que ce soit, au moins pour un animal ; mais quand sa virulence est universellement éteinte, nous sommes impuissants à la régénérer. Nous n'affirmerons pourtant pas qu'elle est irrémédiablement perdue. Qui sait s'il n'existe pas quelque animal plus réceptif que le cobaye d'un jour, et pour lequel notre bactéridie avirulente se montrerait faiblement pathogène, et s'il ne serait pas possible par passages sur cet animal de faire réapparaître la virulence et de l'exalter (n'est-ce pas là justement ce que nous avons fait quand, constatant que la bactéridie atténuée pendant 7 jours était avirulente pour tous les animaux de labo-

ratoire, nous avons recouru au cobaye d'un jour ?). Qui sait s'il n'existe pas quelque condition médicamenteuse, toxicologique ou pathologique dans laquelle la bactéridie avirulente pourrait montrer quelque virulence pour un animal en apparence réfractaire, et si nous ne disposerions pas ainsi d'un moyen de renforcer cette virulence et de la ramener à la primitive valeur ? (N'est-ce pas là ce que nous avons reconnu en inoculant la bactéridie non virulente pour le chien, chez le chien enragé ? On obtient encore des résultats équivalents en inoculant à un animal un streptocoque non pathogène, celui qu'on trouve normalement dans la bouche p. ex., associé au bouillon de culture du bactérium coli.)

Si nous ne nous étions interdit d'aller errer au bois des illusions et des rêves, nous dirions volontiers que beaucoup peut-être, parmi les microbes banals répandus à profusion dans le monde ambiant, et qui ne sont pas pathogènes, n'attendent pour le devenir qu'une occasion favorable, créant des réceptivités actuellement inexistantes et que cela réserve sans doute aux générations à venir des maladies et épidémies qui ont disparu présentement, qui même peut-être n'ont jamais existé. Mais arrêtons-nous, car nous n'écrivons pas un roman à la Jules Verne.

Nous venons de constater de remarquables variations de virulence, que nous pouvons produire à notre gré. Nous en constatons d'équivalentes en *épidémiologie* : telle épidémie typhique ou cholérique est relativement bénigne, telle autre est d'une exceptionnelle gravité, sans qu'il soit possible de reconnaître quelque condition particulière capable de rendre compte de ces dissemblances ; force nous est de rapporter les différences observées dans la gravité du mal à des différences de virulence des microbes coupables de l'épidémie.

Il serait assurément très important de pouvoir *dissocier les éléments simples de cette résultante qu'est la virulence microbienne*, et d'étudier méthodiquement chacun de ces éléments : la propriété de produire des toxines agissant sur les éléments de l'organisme sensibles à l'infection, ou des leucotoxines ou leucocidines agissant sur les cellules phagocytaires, la propriété de se développer et de se multiplier plus ou moins rapidement dans les humeurs de l'organisme et de s'y adapter toujours mieux, la propriété de créer dans le milieu un chimiotaxisme négatif pour les phagocytes, la propriété de se mouvoir et d'éviter par là en quelque mesure la poursuite phagocytaire, la propriété de se soustraire à l'englobement par la production de gaines

ou d'auréoles, la propriété d'engendrer des spores plus résistantes que les formes végétatives à la digestion intraleucocytaire, ou de se montrer inaltérables par les sucs protoplasmiques. Cette étude faite, il serait possible de fixer la part qui revient dans une infection déterminée à l'une ou à l'autre de ces diverses propriétés, et sans doute d'intervenir plus efficacement, parce que plus exactement, pour neutraliser tel ou tel de ces moyens de combat. Actuellement, nous devrons nous borner à donner de sommaires indications sur les points que nous venons de soulever.

Pour les microbes toxigènes, la propriété de produire la toxine en quantité plus ou moins grande, toutes conditions égales, est assurément un élément de virulence. On a isolé des fausses membranes diphtériques des bacilles plus ou moins toxigènes, et on possède dans les laboratoires des races qu'on s'efforce de conserver inaltérées, qui se distinguent par la capacité qu'elles possèdent à un degré éminent de fabriquer de grandes quantités de toxine, ou, si on préfère employer cette forme de langage, une toxine très active. — Il serait toutefois imprudent de prétendre que la virulence des bacilles diphtériques, tétaniques, etc., ne dépend que de leur aptitude à produire plus ou moins de toxine. On conçoit aisément que cette virulence puisse dépendre aussi de la rapidité plus ou moins grande de la multiplication du microbe et des obstacles plus ou moins efficaces qu'il oppose à la phagocytose. En fait, de deux microbes toxigènes inégalement virulents, le plus virulent n'est pas toujours et nécessairement le plus toxigène.

Après avoir reconnu le rôle fondamental de la phagocytose dans l'immunité antimicrobienne, nous avons noté les phénomènes de chimiotaxisme positif ou négatif, phénomènes dépendant vraisemblablement de la diffusion dans le milieu de quelque substance issue du microbe et capable d'impressionner les leucocytes qu'elle atteint. Mais que sont ces substances microbiennes ? Sont-ce les toxines elles-mêmes quand il en est sécrété ? Sont-ce des substances distinctes des toxines ? Sont-ce des substances banales, matières salines, produits de désintégration chimique du protoplasma microbien, etc. ? Nous ne le savons pas. Sont-elles spécifiques ? Et nous pourrions multiplier les questions qui ne reçoivent pas de réponse présentement.

On a imaginé que les microbes fabriquent et excrètent des substances qu'on a appelées *agressines*, et qui s'en iraient au loin agir sur les leucocytes pour les dépouiller totalement ou partiellement de leur propriété phagocytaire, un microbe étant d'autant plus virulent qu'il produit

des agressines plus abondantes et plus actives. D'une façon générale, il semble que les agressines, définies comme nous venons de le faire, sont plus théoriques que réelles : il sera sage en tous cas de ne pas trop se fourvoyer en leur compagnie.

Notons pourtant que quelques microbes, le staphylocoque et le bacille pyocyanique p. ex. sécrètent un poison agissant sur les leucocytes.

Injectons dans la plèvre du lapin une culture staphylococcique : un exsudat se forme qu'on peut retirer et par filtration débarrasser des microbes qu'il contient. Cet exsudat est toxique pour les leucocytes : si on examine au microscope des leucocytes frais immergés dans ce liquide, on les voit subir de profondes modifications : leurs mouvements amiboïdes cessent de se produire ; ils prennent bientôt l'apparence globuleuse et finalement ils se dissolvent dans le milieu. — On obtient les mêmes résultats avec le bacille pyocyanique.

Il est évident que si tel ou tel microbe virulent a la propriété de fabriquer de telles substances, qu'on appelle *leucocidines,* elles jouent un rôle important dans la fixation du degré de virulence. Mais en existe-t-il toujours, ou simplement souvent ? Nul n'oserait l'affirmer.

La *mobilité,* que présentent certains microbes, semble leur venir en aide pour éviter la prise leucocytaire, pour se multiplier et pour infecter l'organisme.

On le démontre au moins dans un cas particulier. Si on injecte dans le péritoine du cobaye une quantité de culture cholérique un peu supérieure à la dose mortelle, on constate que la phagocytose se produit : ce sont les éléments les moins mobiles qui sont tout d'abord englobés, puis ceux qui sont un peu plus mobiles. Finalement, 3 ou 4 h. après l'injection, l'examen microscopique du liquide péritonéal montre, à côté de leucocytes remplis de vibrions englobés, des vibrions libres remarquables par la rapidité de leurs mouvements : ils ne se laissent pas englober, se développent, se multiplient et finalement provoquent une infection qui conduit le cobaye à la mort.

Certaines espèces de microbes peuvent créer, dans des conditions déterminées tout au moins, des *appareils de protection, auréoles* et *gaines défensives,* grâce auxquelles ils se soustraient à l'englobement phagocytaire.

Voici ce *streptocoque* de la variété très virulente pour le lapin dont nous avons parlé p. 374 : il tue le cobaye à la dose de 0 c. c. 2 en injection intrapéritonéale. Quand nous injectons seulement 0 c. c. 1 la phagocytose intrapéritonéale est totale et rapide. Avec la dose mortelle de 0 c. c. 2, la phagocytose n'est que partielle : des microbes échappent à l'englobement et se multiplient. Or ces microbes présentent un caractère qu'ils n'avaient pas au moment de l'inoculation : ils sont enveloppés d'une auréole assez large, présentant des colorabilités histo-chimiques très spéciales, grâce auxquelles on la manifeste aisément. Les microbes nouveau-nés, dérivant de ces microbes auréolés, le sont comme eux, et, comme eux, échappent totalement à l'englobement phagocytaire. L'exsudat renferme de nombreux macrophages et microphages, mais, dans leur protoplasma, il n'y a pas un seul streptocoque auréolé. Est-ce à dire que ces leucocytes auraient été altérés par quelque agressine microbienne supprimant leur propriété phagocytaire ? Non, car si on introduit maintenant dans le péritoine quelques microbes banals, p. ex. le proteus vulgaris, non pathogène, l'englobement de ce dernier est réalisé presque instantanément par les phagocytes, qui continuent à ne point englober les streptocoques auréolés. Les streptocoques auréolés sont donc protégés par l'auréole, dont ils se sont enveloppés, contre l'accollement aux phagocytes, et par conséquent contre la phagocytose.

Voici la *bactéridie charbonneuse* vivant dans un organisme, et qui s'entoure d'une gaine (comme le streptocoque s'entoure d'une auréole), la protégeant contre la phagocytose et lui permettant de se multiplier et d'engendrer l'infection mortelle. Voici le bacille pesteux, qui lui aussi peut présenter l'auréole de protection ; et on pourrait citer d'autres exemples encore, le pneumocoque, etc.

L'importance de ces auréoles et gaines comme éléments de virulence est facile à mettre en évidence. Les streptocoques présentent d'innombrables degrés de virulence faciles à obtenir : les streptocoques virulents pour un animal donné sont aptes à fabriquer l'auréole quand ils sont inoculés à dose suffisante dans l'organisme ; les streptocoques peu virulents sont dépourvus de cette propriété. Lorsque la bactéridie est soumise aux actions qui l'atténuent et la transforment en vaccin, elle perd la propriété de fabriquer une gaine.

Toutefois *si les auréoles et les gaines sont d'importants élements de virulence, ils ne sont pas des éléments nécessaires de virulence* : la virulence peut exister pour des

microbes inhabiles à en fabriquer. D'autre part, des microbes encapsulés ne sont pas toujours et nécessairement virulents. Ne confondons pas gaine, auréole et virulence : contentons-nous d'avoir noté des faits intéressants, et disons que, pour les streptocoques tout au moins, l'auréole est le témoin de la virulence, comme pour les bactéridies, la gaine en est le garant.

Certaines espèces microbiennes enfin peuvent se laisser phagocyter, mais *ne subissent pas de digestion intraleucocytaire,* continuant à vivre et à se développer après leur englobement. Ces faits sont d'ailleurs exceptionnels. On cite les gonocoques dans l'infection blennorrhagique de l'homme. Cette résistance à la digestion intraleucocytaire est un élément de virulence, quand elle se manifeste.

En général, les microbes englobés sont à peu près toujours tués, désagrégés et dissous, mais ils ne le sont pas avec la même rapidité.

Les vibrions cholériques, englobés vivants et intacts se transforment rapidement en granules et par conséquent périssent très vite : si l'on voulait démontrer que les vibrions ont été phagocytés vivants, en transportant dans un milieu de culture convenable un peu de sérosité péritonéale ne contenant plus de microbes libres, il faudrait faire ce transport aussitôt qu'ont disparu les derniers vibrions libres, sous peine de voir la culture demeurer stérile. Tel autre microbe sera plus résistant : le bacille typhique est encore cultivable 2 h. après l'englobement. Tel autre sera plus résistant encore : le streptocoque demeure vivant dans les leucocytes pendant de longues heures et même, pour quelques races de streptocoques, pendant des jours.

Qui dit englobement ne dit pas nécessairement destruction totale et définitive du microbe : si nous le prétendions, le *gonocoque* nous donnerait un démenti. Qui dit englobement ne dit pas nécessairement destruction immédiatement acquise du microbe, puisque le microbe survit plus ou moins longtemps dans le leucocyte, et que l'infection risque d'éclater malgré l'englobement parachevé, si quelque condition spéciale vient à se réaliser. Qui dit englobement dit simplement première phase de la destruction microbienne avec (nous pouvons ajouter à peu près toujours) probabilité de destruction totale du microbe par la

digestion intracellulaire, qui est la seconde phase de la phagocytose totale.

Nous nous bornerons à ces quelques indications qui sont les seules positives que nous possédions sur la virulence microbienne. La question demande de nouvelles recherches expérimentales nombreuses. Nous ne commettrons pas la faute de substituer à ces recherches inaccomplies des hypothèses et des théories, qui prouveraient sans doute que nous possédons une imagination fertile, mais qui n'auraient pas d'autre valeur.

Au point où nous sommes arrivés, il convient d'étudier l'*évolution d'une infection*, et d'assister à cette lutte entre l'organisme et le microbe, dans laquelle les deux adversaires s'engagent à fond, perfectionnant et multipliant les armes jusqu'à ce qu'intervienne la décision.

Les microbes pénètrent dans l'organisme par des voies et par des moyens divers : tantôt ils sont introduits avec les aliments dans le tube digestif, tantôt ils sont apportés par l'air inspiré et déposés sur les parois nasales, pharyngées, laryngées, bronchiques ou pulmonaires, tantôt amenés avec les poussières en suspension dans l'air à la surface de la peau, ils profitent d'une discontinuité épidermique accidentelle pour envahir le derme, ou le tissu cellulaire sous-cutané ; tantôt enfin ils sont inoculés plus ou moins profondément dans les tissus à la suite d'un traumatisme, etc.

Admettons que, par un moyen quelconque, un microbe ait été introduit en une région déterminée de l'organisme, dans le tissu cellulaire sous-cutané p. ex. On constate souvent, non pas toujours (l'inoculation sous-cutanée de bacilles pesteux ne donne lieu à aucune réaction locale) qu'il se produit une inflammation dans la région d'inoculation. Jadis on désignait sous ce mot d'*inflammation* une modification locale caractérisée par les symptômes : *chaleur, tumeur, rougeur, douleur*. On distingue actuellement dans l'inflammation divers éléments : la *vaso-dilatation locale*, la *perméabilisation des parois capillaires*, ou plus généralement vasculaires, la *diapédèse des leucocytes*.

La *vaso-dilatation* est un phénomène physiologique qui peut reconnaître deux causes distinctes, soit une cause nerveuse centrale, soit

une cause vasculaire périphérique : dans le premier cas, il s'agit d'une suspension de l'action vaso-tonique du bulbe rachidien, totale ou partielle, telle qu'on peut l'obtenir par cocaïnisation bulbaire ; dans le second cas, il s'agit d'une suppression de la tonicité vasculaire par action exercée directement sur les petits vaisseaux, sans qu'il soit possible de distinguer la part qui revient en ce phénomène à la fibre musculaire et celle qui revient à l'appareil nerveux vaso-moteur périphérique.

Dans le cas d'inflammation consécutive à l'inoculation microbienne, on n'est pas autorisé à faire intervenir le bulbe, ou toute autre partie du système neveux central, parce que les vaso-dilatations d'origine centrale sont systématiques, c'est-à-dire intéressent simultanément l'ensemble des vaisseaux d'un organe (foie ou rein p. ex.) ou d'un groupe de muscles, tandis que la vaso-dilatation d'inflammation microbienne est strictement limitée à la zone de l'organisme envahie par les microbes, ou par les produits toxiques sécrétés par eux, ou injectés avec eux : la vaso-dilatation d'inflammation est le résultat d'une action locale, directe. On connaît de semblables vaso-dilatations consécutives à l'injection de venins ou de sérums, ou protéines toxiques : si l'inoculation est sous-cutanée ou intramusculaire, la vaso-dilatation est locale ; si l'inoculation est intraveineuse, la vaso-dilatation est générale. Par analogie, on admet que la vaso-dilatation d'inflammation résulte d'une action exercée localement sur les petits vaisseaux par les produits microbiens.

On n'a pas généralement assez insisté, en traitant de l'inflammation, sur les *modifications de la perméabilité vasculaire*. On démontre en physiologie que la quantité du plasma sanguin transsudant à travers la paroi des petits vaisseaux, pour apparaître sous forme de lymphe dans les interstices des tissus, augmente ou diminue en même temps que la pression du sang dans le système artériolo-capillaire. On établit, d'autre part, qu'il est possible de réaliser telles conditions expérimentales dans lesquelles l'augmentation ou la diminution de la lymphogénèse ne sauraient être expliquées par les seuls changements de la pression sanguine ; on admet que les irrégularités ainsi constatées relèvent de quelque modification de la paroi artériolo-capillaire, qui est devenue plus ou moins perméable à la liqueur sanguine, qu'elle ne l'est normalement : une telle perméabilisation se produit p. ex. sous l'influence des injections de peptone chez le chien, ou sous l'influence des injections de venins chez plusieurs espèces animales. — Dans l'inflammation, il y a à coup sûr, augmentation de la pression artériolo-capillaire, comme il arrive chaque fois qu'il y a vaso-dilatation. Mais la vaso-dilatation constatée ne suffit pas à rendre compte de la production d'un abondant exsudat séreux au point d'injection ; car, malgré que la vaso-dilatation soit également

développée à la suite de deux inoculations dissemblables, l'exsudat n'a pas la même abondance dans les deux cas ; car aussi, on connaît maintes conditions physiologiques dans lesquelles se produit une vaso-dilatation considérable sans exsudation. Nous sommes ainsi conduits à admettre, par analogie, que les produits microbiens diffusant perméabilisent la paroi capillaire pour le passage du liquide et la formation de l'exsudat inflammatoire plus ou moins abondant selon l'infection considérée.

La *diapédèse* enfin se produit : les leucocytes quittent les vaisseaux pour se diriger vers les points d'infection, guidés par leur chimiotaxisme positif. Ici encore, nous ferons intervenir une substance, issue des microbes, et allant à distance impressionner les globules blancs, car la diapédèse suppose que le leucocyte a été arrêté, en cours de voyage vasculaire, en quelque point d'un capillaire, pour de là s'insinuer à travers la paroi et glisser dans les espaces périvasculaires : comme les leucocytes sont dans les vaisseaux, donc sans contact avec les microbes, ceux-ci ne peuvent agir sur ceux-là que par des produits chimiques émis dans le milieu ambiant.

Notons que la diapédèse n'est pas la conséquence nécessaire de la vaso-dilatation et de la perméabilisation des vaisseaux, parce que ces deux modifications peuvent s'accomplir sans que la diapédèse s'ensuive : c'est ce qui arrive p. ex. quand le microbe inoculé exerce une action chimiotactique négative sur les leucocytes (streptocoques chez le lapin p. ex.). Les agents du chimiotaxisme positif ou négatif ne sont pas nécessairement les mêmes que ceux qui déterminent la diapédèse. On pourrait d'ailleurs établir que la vaso-dilatation et la perméabilisation des vaisseaux ne dérivent pas de l'action exercée par une seule et même substance : il peut y avoir en effet vaso-dilatation sans perméabilisation vasculaire (en pareil cas, l'exsudat ne se produit pas, ou ne se produit qu'en petite quantité).

Si, dans notre analyse des manifestations inflammatoires, nous ne nous sommes pas mépris, *l'inflammation nous apparaît comme la conséquence d'actions exercées par des éléments chimiques issus des microbes sur les vaisseaux et sur les leucocytes.*

Tantôt les phagocytes attirés par les microbes (cas de *chimiotaxisme positif*) vont accomplir leur œuvre d'englobement, et la lutte n'est pas de longue durée, les microbes étant rapidement détruits. Tantôt les phagocytes repoussés par les microbes (cas de *chimiotaxisme négatif*) ne jouent pas le rôle bienfaisant qui est le leur : la bataille est perdue pour l'organisme avant d'être livrée, puisque ses défenseurs ne partent

pas à la contre-attaque. Tantôt la bataille s'engage, dure, présente des alternatives, reprend plus vive après une phase d'accalmie, et ne prend fin que tardivement : c'est l'infection avec ses phases successives, et c'est la guérison ou la mort, selon que l'organisme ou le microbe gagne la partie.

L'*appel leucocytaire* est parfois tellement persistant et impérieux que les éléments blancs (ce sont dans ces conditions surtout les microphages) s'accumulent innombrables au point d'infection et y demeurent comme embouteillés, en raison de l'insuffisance des voies d'évacuation. Les conditions dans lesquelles ils se trouvent ainsi placés sont assurément défavorables à leur vitalité : ils subissent des transformations structurales progressives, notamment une dégénérescence graisseuse, qui les transforme en *globules de pus*. Ainsi se constitue une collection purulente, qui se loge entre les tissus qu'elle écarte, dissocie et refoule. Parfois aussi le microbe présent fabrique une de ces leucocidines, dont nous avons parlé, et qui empoisonnent le leucocyte et le font périr : du pus est encore engendré.

La *suppuration,* c'est-à-dire la transformation en pus d'une sérosité leucocytaire est généralement la conséquence d'une infection microbienne. Elle se présente particulièrement fréquente et importante dans les infections où se produit une abondante diapédèse et où le microbe engendre une *leucocidine :* c'est le cas des infections staphylococciques et streptococciques, et plus généralement des infections par microbes dits pyogènes. Ce sont en général en pareille circonstance les microphages qui abondent dans le milieu.

L'appel leucocytaire peut s'adresser aux macrophages ; il est alors généralement moins puissant. Les macrophages arrivés en la zone d'infection s'unissent souvent et se fusionnent en *cellules géantes,* dans lesquelles sont englobés des microbes (c'est ce qui se produit p. ex. pour le bacille tuberculeux). Autour de la cellule géante, d'autres macrophages viennent s'accoler, et ainsi se constitue peu à peu le *tubercule,* soit le tubercule proprement dit (quand il s'agit de bacilles tuberculeux), soit une formation équi-

valente (quand il s'agit d'autres microbes). Le tubercule d'ailleurs subit une transformation progressive sous l'influence des substances toxiques engendrées par les bacilles tuberculeux, et qui constitue la *caséification* (transformation caséeuse) des parties centrales. C'est encore une suppuration (transformation de leucocytes en pus), mais une suppuration d'un type spécial.

La suppuration, sous les deux formes que nous venons d'indiquer n'est pas liée à la vitalité des microbes : elle se produit également bien quand on inocule les microbes tués (staphylocoques et bacilles tuberculeux p. ex.), et elle revêt, dans les deux cas, les mêmes apparences.

L'*immunité est rapidement assurée si la phagocytose est totale,* c'est-à-dire si les leucocytes ne laissent aucun microbe libre dans le milieu et leur font subir la destruction dans leur protoplasma. L'*infection se développe,* au contraire, *si la phagocytose n'est pas totale,* et cette infection est d'autant plus grave, toutes autres conditions égales, que la phagocytose est moins parfaite.

Les microbes non englobés peuvent se propager de proche en proche dans les tissus voisins (infection par continuité), mais en général, ils sont entraînés par la *lymphe:* la lymphe provenant du champ inflammatoire est d'ailleurs surabondante, en raison de l'exagération de la perméabilité vasculaire ci-dessus notée. En cours de route dans les lymphatiques, les microbes en suspension dans la lymphe traversent les *ganglions lymphatiques,* correspondant à la région d'où ils proviennent, et là, comme partout sur leur passage, ils créent une irritation d'abord, une inflammation ensuite (les ganglions sont volumineux et douloureux ; ils sont d'ailleurs congestionnés et œdématiés). Les leucocytes sont nombreux dans les ganglions : il pourra s'y livrer une nouvelle bataille phagocytaire, et l'infection pourrá être arrêtée en cours d'invasion. Mais il se peut aussi que les leucocytes ganglionnaires soient impuissants à assurer la phagocytose totale : des microbes dépassent les ganglions et, après un simple arrêt plus ou moins prolongé en cette intermédiaire sta-

tion, ils progressent de nouveau, pour gagner par les gros troncs lymphatiques la circulation générale. Deux cas peuvent alors se présenter : tantôt le microbe est simplement emporté par le sang, sans s'y développer rapidement et abondamment, il y a *bactériémie* ; tantôt le microbe se développe à l'infini dans le sang, et fait du sang son domaine : il y a *septicémie*.

Chez l'homme, on connaît quelques exemples de septicémies, p. ex. la septicémie streptococcique, la plus fréquente et des septicémies staphylococcique, bactéridienne, pesteuse ; par contre, les pneumococcies, les gonococcies, les tuberculoses, la fièvre typhoïde ne se présentent pas de coutume sous la forme septicémique : les microbes correspondants passent bien dans le sang, et par lui sont entraînés pour aller constituer des colonies lointaines, mais ils ne font pas, à vrai dire, du sang leur habitat. Le pneumocoque pulmonaire donnera des colonies pleurales (on connaît des pleurésies purulentes pneumococciques) ou méningées ; le gonocoque fournira des colonies articulaires (arthrite gonococcique) ; le bacille tuberculeux pulmonaire se propagera aux méninges, aux os, aux reins, etc.), mais ils ne produisent généralement pas de septicémie. Notons du reste que les microbes des espèces qui produisent le plus facilement des septicémies n'en produisent pas toujours et nécessairement, se contentant de donner naissance à des colonies distantes ; et qu'inversement les microbes qui ne produisent pas de coutume des septicémies en peuvent engendrer exceptionnellement. — Nous ne connaissons pas les causes et conditions de ces modes particuliers de propagation : nous enregistrons simplement les observations.

La *généralisation d'une infection* est essentiellement question d'espèce microbienne : il est des microbes qui ne sont pas envahissants, d'autres qui le sont quelque peu, d'autres qui le sont beaucoup ou infiniment.

Le bacille diphtérique se développe de préférence à la surface des muqueuses, et notamment des muqueuses pharyngée et laryngée, et n'a aucune tendance à envahir l'organisme. Le bacille tétanique n'existe qu'au point de pénétration ou d'inoculation. Le vibrion cholérique, dans le choléra de l'homme, ne se trouve que dans l'intestin. En général les microbes qui sont puissamment toxigènes ne sont pas envahissants. Il existe des microbes qui se développent particulièrement bien (sinon exclusivement) dans certains tissus manifestant par là cette propriété qu'on appelle *organotropie* : le virus de la rage

p. ex., quel que soit son point de pénétration, se développe abondamment dans les centres nerveux ; le méningocoque, dans le liquide céphalo-rachidien ; le virus de la polyomyélite, dans la substance grise des cornes antérieures de la moelle ; le microbe de la dysenterie bacillaire, dans la muqueuse du gros intestin. Par contre, le streptocoque, le staphylocoque, le bacille tuberculeux se développent en quelque tissu que ce soit, et ont tendance à se généraliser.

Durant que se livre cette bataille de l'organisme et du microbe, ou, si l'on veut, du phagocyte et du microbe, des changements se produisent chez l'un et chez l'autre adversaire, qui peuvent faire pencher la balance en faveur de l'un ou de l'autre, de l'attaque ou de la défense, selon que la modification aura renforcé la résistance de l'organisme ou l'aura diminuée, selon qu'elle aura renforcé ou atténué la virulence du microbe, comme, en des armées combattantes, les modifications d'armement, de ravitaillement, de commandement peuvent changer considérablement la situation et décider du sort des pays en guerre.

Nous avons signalé ci-dessus la production de *gaines* ou d'*auréoles* autour des bactéridies et des streptocoques, grâce auxquelles la phagocytose de ces microbes ne se fait plus. C'est là un fait de *renforcement de la virulence* qui se révèle à l'observateur microscopisant par la production de particularités structurales et à l'observateur expérimentateur par la supériorité combattive que confèrent ces dispositions spéciales au microbe qui les a réalisées.

Parmi les microbes présents au début de l'infection, les uns ont pu fabriquer gaine ou auréole avant d'être phagocytés, les autres ne l'ont pas pu, le temps peut-être leur ayant manqué, ou la capacité biologique de le faire. Ces derniers se sont montrés inférieurs aux autres dans la lutte pour la vie, qu'ils soutenaient contre les phagocytes : ils ont disparu, englobés et détruits. Les autres seuls, éléments sélectionnés ainsi, particulièrement armés pour la lutte, ont survécu, constituant une race plus résistante. La virulence a été ainsi renforcée pour ces microbes particulièrement vigoureux et pour leurs descendants : c'est là un fait d'*exaltation de la virulence*, dont nous saisissons le mécanisme.

Tous les microbes virulents ne fabriquent pas des auréoles ou des gaines et nous ne connaissons pas le mécanisme de leur *survirulence*. Il est sans doute d'autres moyens de défense, que nous ne connaissons pas, que le microbe peut développer durant la lutte qu'il mène

contre le phagocyte. Le problème est posé ; la solution n'est pas acquise.

Du côté de l'organisme, la défense se renforce aussi durant la lutte engagée contre les microbes. Nous avons étudié ci-devant les *opsonines* dans le rôle si remarquable qu'elles jouent pour augmenter le chimiotaxisme des leucocytes vis-à-vis du microbe correspondant. Les immunopsonines apparaissent dans les humeurs peu de temps après le début de l'infection, plus ou moins vite d'ailleurs selon la nature du microbe infectant : elles accroissent considérablement la défense, en conduisant plus rapidement et plus sûrement les défenseurs phagocytaires vers l'ennemi qu'il faut détruire.

L'organisme en cours d'infection réagit encore en augmentant le nombre de ses défenseurs, c'est-à-dire en engendrant des leucocytes.

Chez un sujet normal, le nombre des leucocytes est de 6000 à 8000 par millimètre cube. Dans les infections streptococcique ou staphylococcique, ce nombre atteint 25000 à 30000. Ce sont alors les microphages qui sont surabondants : dans le sang normal, ils représentent les 2/3 des leucocytes ; dans le sang des sujets présentant ces infections, ils en représentent les 9/10, sinon plus.

Dans certaines tuberculoses, sinon dans toutes, on note de même une augmentation du nombre des leucocytes, une hyperleucocytose : ce sont alors les macrophages qui sont devenus plus nombreux que chez le sujet normal : ces *hypermacrophagies* étant toujours beaucoup moins considérables que les *hypermicrophagies* dont nous parlions tout à l'heure.

Une remarque. L'*hyperleucocytose de renforcement défensif* ne se produit pas toujours. Dans la fièvre typhoïde p. ex., il y a tout au contraire hypoleucocytose ou leucopénie c'est-à-dire diminution du nombre des leucocytes. Pourquoi ces dissemblances ? Nous ne saurions répondre sûrement à cette question ; mais nous pouvons tout au moins nous demander si (dans cette grave affection qu'est la fièvre typhoïde, comportant des troubles fonctionnels nombreux et graves qui traduisent des suppressions, des réductions ou des viciations de fonctions normales) les tissus leucocytoformateurs ne sont pas rendus insuffisants. Et cette conception hypothétique est au moins appuyée, sinon totalement justifiée, par les faits suivants. Chez le cobaye et le lapin soumis à l'infection typhique expérimentale, il y a hyperleucocytose quand le sujet résiste bien à l'infection. On observe

d'ailleurs chez l'homme cette même hyperleucocytose dans l'immunisation ou vaccination antityphique, c'est-à-dire dans des conditions où l'affection provoquée n'est ni grave ni prolongée.

Existe-t-il d'autres adaptations de l'organisme à la lutte contre le microbe agressif ? Peut-être, mais actuellement nous ne les connaissons pas.

La maladie est faite du conflit de l'organisme et du microbe, dont nous avons examiné quelques-uns des éléments. Si nous nous bornons à considérer les infections proprement dites, un microbe possédant une certaine virulence a pénétré dans l'organisme. Celui-ci se défend par ses troupes de couverture, immédiatement prêtes à la lutte, mobilisables au premier appel, c'est-à-dire par ses leucocytes, tantôt par les microphages, tantôt par les macrophages, selon le microbe inoculé, au moins quand ce microbe provoque le chimiotaxisme positif des leucocytes.

En général, il se produit une inflammation locale, caractérisée par la vaso-dilatation, par la perméabilisation des parois vasculaires, par la formation d'un exsudat, éventuellement par la diapédèse des leucocytes.

La bataille s'engage. Si la phagocytose est totale, la victoire est immédiatement acquise à l'organisme : l'infection est localisée. Selon la nature du microbe, selon la grandeur de son pouvoir d'attraction pour les leucocytes, selon qu'il fabrique des poisons leucocytaires, ou qu'il n'en fabrique pas, la résorption de l'exsudat se fait rapide et parfaite sans résidu, ou bien l'exsudat et ses leucocytes subissent la *transformation purulente* (qui constitue un épiphénomène, un résidu de bataille, dont il convient de débarrasser l'organisme pour remettre toutes choses en état. — Si la phagocytose ne se produit pas, ou ne se produit qu'insuffisante, les microbes inoculés se multiplient sur place : les plus résistants d'entre eux, ceux qui se laissent le moins aisément englober, sont ceux qui vont demeurer ; leurs descendants participent vraisemblablement à leurs qualités, et ainsi se constitue une race microbienne plus vigoureuse, plus virulente, mieux armée que

les premiers envahisseurs pour mener une lutte plus âpre contre l'organisme qui se défend.

L'envahissement de l'organisme se produit ; mais il y a des obstacles à surmonter, des résistances à briser, une ligne de défense à forcer : les ganglions lymphatiques représentent cette ligne de défense. La bataille s'y poursuit tantôt au profit de l'organisme, et alors c'est le retour à la santé ; tantôt au profit du microbe qui n'est pas totalement phagocyté, et alors la progression va continuer : le microbe atteint le sang, et, emporté dans l'appareil circulatoire, tantôt il va se loger en tel ou tel organe, pour y provoquer des manifestations morbides locales, tantôt il s'installe dans le sang, pour s'y multiplier à l'infini. Dans l'un ou dans l'autre cas, l'infection proprement dite est réalisée.

Durant que se livre la bataille de frontière, l'organisme mobilise des troupes nouvelles en fabriquant des leucocytes et prépare un armement plus puissant en fabriquant des opsonines. Il reprend la lutte dans des conditions nouvelles, plus favorables, en raison du nombre de ses défenseurs et de leurs moyens de combat. Cette défense du territoire envahi ne saurait d'ailleurs être efficace que si l'organisme dispose encore de ses moyens de production et de ses capacités de rendement suffisant en leucocytes et en opsonine, c'est-à-dire si ses organes producteurs de leucocytes et d'opsonine n'ont pas été touchés dans leurs œuvres vives, de façon grave ou sérieuse, ainsi qu'il peut arriver sous l'influence de ces produits toxiques, que versent dans les humeurs certains microbes pathogènes, et qui peuvent diffuser au loin dans la profondeur des lignes de défense et jusqu'à l'extrême arrière, comme un nuage de gaz toxiques.

La bataille est de nouveau engagée ; elle peut présenter des alternatives de succès et d'insuccès, et puis, brusquement ou lentement, selon la nature des infections, la décision intervient en faveur de l'un ou de l'autre adversaire.

Si l'organisme est vaincu, c'est la mort pour lui ; pour le microbe victorieux, c'est généralement un surcroît de virulence pour les animaux de même espèce que celui

dont il vient de triompher. Si l'organisme est victorieux, c'est la disparition des microbes, qui, plus ou moins rapidement, sont saisis par les leucocytes et détruits par eux. C'est la guérison du vainqueur, ou plutôt la convalescence, car il lui faudra un temps plus ou moins long, pour panser ses blessures, restaurer ses ruines, reconstituer ses réserves et reprendre le cours normal de la vie : les choses diffèrent ici beaucoup d'une infection à l'autre, d'un animal à l'autre, et souvent même d'un individu à l'autre, en raison de la durée et de l'âpreté de la lutte subie, c'est-à-dire de la résistance du malade et de la virulence du microbe. C'est question de cas particuliers.

En général, la guérison est acquise quand elle se manifeste par la régression des accidents, et si, en cours de convalescence, le malade peut subir une nouvelle infection, elle est d'ordinaire différente de celle dont il vient de sortir. Sans doute, il peut y avoir des rechutes durant la convalescence (on en note dans la convalescence de fièvre typhoïde), mais ce sont des exceptions.

Le sujet guéri, qu'il soit encore en convalescence ou qu'il ait recouvré intégralement la santé, conserve plus ou moins longtemps et plus ou moins profondément, le *souvenir organique du temps de guerre* : ses humeurs, et notamment son sérum, contiennent des agglutinines spécifiques et des sensibilisatrices spécifiques, qu'on y peut déceler plus ou moins longtemps suivant la nature de l'infection subie.

L'animal guéri présente généralement une immunité acquise vis-à-vis de l'infection passée, immunité qui du reste s'atténue progressivement jusqu'à disparaître. Mais les différences sont extrêmes entre les diverses infections. Tantôt cette immunité est absolue ; tantôt elle est partielle. Tantôt elle est de longue durée, persistant jusqu'à la mort du sujet, ou tout au moins pendant des dizaines d'années (scarlatine, variole) ; tantôt elle est moins tenace (peste, fièvre typhoïde). Parfois elle semble ne pas exister (diphtérie, tétanos, grippe), parfois même l'animal semble plus sensible que l'animal neuf à une infection déjà subie (érysipèle à répétitions).

Si nous avons pu étudier en microbiologie des faits généraux et énoncer des lois, beaucoup de notions pourtant relèvent présentement de la documentation empirique. La microbiologie n'est pas encore arrivée à ce degré de développement, où les résultats d'une science peuvent être enregistrés sous forme de symboles mathématiques, ou d'équations algébriques.

INDEX ALPHABÉTIQUE

Abcès, 97.
Abrine, 167.
Absorption alimentaire microbienne, 36.
Accélération respiratoire, 210.
Accidents anaphylactiques locaux, 203.
Accroissement des microbes, 32.
Accumulation toxique, 202.
Acétification du vin, 39.
Acétique (acide), 57.
Acétique (ferment), 58, 71.
Acétique (fermentation), 56.
Acide acétique, 57.
Acide butyrique, 60.
Acide carbonique, 40.
Acide lactique, 52.
Acide malique, 31.
Acides minéraux, 24.
Acide succinique, 45.
Acide sulfureux, 29.
Acide tartrique, 35.
Acidification du lait, 39.
Acte chimique de la fermentation, 64.
Acte diastasique, 70.
Acte vital, 70.
Actinies (tentacules d'), 201.
Actinocongestine, 202.
Action bactéricide, 256.
Action bactériolytique, 256.
Action cachectisante, 140.
Action curative des sérums, 189.
Action cytolytique, 270.
Action hématolytique, 140, 148.
Action microbicide, 256.
Action nécrosante, 140, 148.
Action préventive des sérums, 186.
Activation d'un sérum, 258.
Adaptations microbiennes, 37, 59.
Aération, 50.
Aérobie (vie), 50, 59.
Affections tuberculeuses, 98.
Afflux leucocytaire, 357.
Agglutinables (microbes), 244.
Agglutinants (sérums), 237, 355.
Agglutination, 243.
Agglutinine, 246.
Agglutinine (fixation de l'), 250.
Agglutinines normales, 252.
Agglutinines spécifiques, 252.
Agressines, 377.
Air, 5, 50.
Albumines, 33.
Albumino-précipitines, 240.
Alcaloïdes, 142.
Alcool, 40, 45.
Alcool amylique, 46.
Alcoolase, 74, 130.

Alcoolique (ferment), 71.
Alcoolique (fermentation), 39.
Aldéhyde, 59.
Aldéhyde formique, 29.
Alexine, 254, 260, 262, 273, 352, 354.
Alexines (famille d'), 274.
Alexique (sérum), 275.
Alimentaires (matières), 25.
Aliments azotés, 34, 46.
Aliments des microbes, 24, 33.
Aliments ternaires, 34, 47.
Amiante, 9.
Amibienne (dysenterie), 111.
Ammoniacale (fermentation) 63, 70.
Ammoniacaux (sels), 33.
Ammoniaque (carbonate d'), 63.
Amœba africana, 111.
Amœba histolytica, 111.
Amylique (alcool), 46.
Amylolytique (diastase), 114.
Amylolytique (propriété), 70.
Anaérobies (fermentations), 62.
Anaérobies (microbes), 62.
Anaérobie (vie), 50, 51.
Anaphylactisantes (substances), 210.
Anaphylaxie, 15.
Anaphylaxie active, 202.
Anaphylaxie constante, 207.
Anaphylaxie croissante, 207.
Anaphylaxie hétérologue, 212.
Anaphylaxie homologue, 212.
Anaphylaxie-immunité, 227.
Anaphylaxie passive, 202.
Anaphylaxie renforcée, 207, 213.
Anaphylaxie type congestine, 219.
Anaphylaxie type séro-anaphylaxie, 219.
Anaphylaxie venimeuse, 222.
Anesthésiques, 29, 48, 54.
Angine à fausses membranes, 99.
Anguille (sérum d'), 139, 144, 156, 158, 160, 162.
Animalien (régime), 34.
Animal immun, 170.
Animaux réfractaires, 169.
Anophèle, 111.
Anurie, 135.
Antianaphylaxie, 221.
Anticharbonneux (sérum), 329, 347.
Anticholérique (sérum), 329, 348.
Anticobraïque (sérum), 191.
Anticorps, 170.
Antidiphtérique (sérothérapie), 190.
Antidiphtérique (sérum), 173, 175, 191.
Antidysentérique (sérum), 329.
Antigène, 170.
Antiméningococcique (sérum), 329.
Antimicrobienne (immunité) active, 329.
Antimicrobien (sérum), 350, 361.
Antipesteux (sérum), 329.
Antiplaquette (sérum), 270.
Antipneumococcique (sérum), 349.
Antipyocyanique (sérum), 349.
Antirabique (immunisation), 318.
Antirabique (immunité), 330.
Antirabique (traitement), 322.
Antiseptiques, 29, 370.
Antisérum, 170.
Antistreptococcique (sérum), 329, 348, 350.
Antitétanique (sérothérapie), 189.
Antitétanique (sérum), 190, 191.
Antitoxine, 168, 173, 176.
Antitoxines (mode d'action des), 176.
Antitoxique (immunité), 225.
Antitoxique (sérothérapie), 189.
Antitoxiques (sérums), 172, 361.

Antityphique (sérum), 349.
Antivenimeuse (sérothérapie), 190.
Antivenin, 168.
Appel leucocytaire, 384.
Arachnolysine, 158.
Argent (sels d'), 28, 29.
Aspergillus niger, 24, 36.
Asporogène (culture) de bactéridies, 316.
Asporogènes (espèces), 22.
Assimilation microbienne, 36.
Atténuation apparente, 373.
Atténuation des toxines, 165.
Atténuation des vibrions, 344.
Atténuation de virulence, 370.
Atténuation réelle, 373.
Auréoles, 378, 387.
Autoclave, 8.
Autospermotoxique (sérum), 272.
Aventures biologiques, 354.
Avirulente (bactéridie), 376.
Azotés (aliments), 34, 46.

Bacille, 2.
Bacille d'Eberth, 84, 101, 106.
Bacille de Klebs-Löffler, 79, 101.
Bacille de Koch, 97, 101.
Bacille de la dysenterie épidémique, 107.
Bacille de la lèpre, 107.
Bacille de la morve, 107, 131.
Bacille de l'influenza, 107.
Bacille d'Escherich, 107.
Bacille de Shiga-Kruse, 121.
Bacille de Nicolaïer, 80, 106.
Bacille diphtérique, 79, 91, 93, 106, 112.
Bacille du choléra, 82.
Bacille du pus bleu, 338.
Bacille du tétanos, 80, 91, 94, 106, 112, 305.
Bacille dysentérique, 126, 127.
Bacille paratyphique, 104 131, 327, 339.
Bacille pesteux, 81, 96, 106, 327.
Bacille pyocyanique, 107, 247, 338.
Bacille tuberculeux, 97, 106, 131, 384.
Bacille typhique, 84, 103, 104, 105, 106.
Bacille virgule, 82.
Bacillus botulinus, 127.
Baccillus lacti aerogenes, 65.
Bacillus lacticus, 65.
Bactéricide (action), 256.
Bactéricide (action) des humeurs, 309.
Bactéricides (sérums), 336.
Bactéridie, 37, 87, 106, 297, 305, 315, 330, 339, 372, 379.
Bactéridie avirulente, 376.
Bactéridienne (infection), 91.
Bactéridies (race de), 316.
Bactérie, 2.
Bactériémie, 386.
Bactéries adjointes, 122.
Bactériolyse, 256, 275, 352, 353.
Bactériolyse intraleucocytaire, 357.
Bactériolysine, 257.
Bactériolytique (action), 251.
Bactériolytique (sérum), 254.
Bacterium coli commune, 107.
Biiodure de mercure, 29.
Blanc d'œuf, 209.
Blennorragie, 80.
Bothrops, 148, 152, 171, 181, 183, 185.
Bougie filtrante, 9.
Botulisme, 127.
Brome, 29.
Bubon pesteux, 81.
Bungarus, 148.
Bungarus cœruleus, 150.
Bungarus fasciatus, 162.

Butyrique (acide), 60.
Butyrique (fermentation), 60, 69.
Butyrique (vibrion), 61.

Cachectisante (action), 140.
Cachexie, 164.
Cachexie anaphylactique, 204.
Cadavres microbiens, 326, 350.
Capacité défensive, 366.
Capacité de génération spontanée, 9.
Capacité offensive, 366.
Caractère ferment, 60.
Caractérisations microbiennes, 248.
Carbonate d'ammoniaque, 63, 70.
Carbonique (acide), 40.
Cascavel, 148, 152, 177, 181, 183, 185.
Caséification du lait, 252.
Caséification tuberculeuse, 385.
Caséine (coagulation de la), 52.
Caséine (précipitation de la), 52.
Cause de la fermentation, 41, 43.
Cause et conditions, 13, 51, 62.
Cellule géante, 384.
Cellules mangeuses, 295.
Cellulose, 33.
Chaînes latérales, 96.
Chaleur, 381.
Chaleur (action de la) sur les êtres vivants, 3.
Chambre antérieure de l'œil, 306, 341.
Charbon, 86.
Charbon bactédirien, 89, 307, 308.
Charbon expérimental, 87.
Charbon spontané, 87.
Charbon symptomatique, 89.
Chauffage discontinu, 9.
Chien enragé, 308.
Chimiotaxisme, 31.
Chimiotaxisme des leucocytes, 299.
Chimiotaxisme négatif, 300, 345, 383.
Chimiotaxisme positif, 300, 345, 383.
Chlore, 29.
Chloroforme, 29, 48, 54, 70, 72.
Choc anaphylactique, 202.
Choc séro-anaphylactique, 205.
Choléra, 77.
Choléra des poules, 84, 314.
Choléra des poules (microbe du) 85, 128.
Choléra indien, 82.
Choléra-sérum, 256.
Cholérique (culture), 131.
Cholérique (vibrion), 77, 82, 101, 245, 247, 255, 296, 326, 336, 341, 380.
Chute de pression, 205, 210.
Cils vibratiles, 30.
Coagulabilité du sang, 205.
Coagulante (action), 139.
Coagulation de la caséine, 52.
Cobra, 118, 148, 166.
Cobra égyptien, 149.
Cobraïsation, 149.
Coccobacille pesteux, 106.
Coccus, 2.
Colibacille, 107.
Collaboration microbienne, 63.
Colloïdale (suspension), 243.
Combustion du sucre, 49.
Complément, 260.
Complexité de la fermentation, 45.
Complexité de la vie, 27, 45.
Composition du milieu, 23.
Conditions de la vie des microbes, 18.
Conditions de milieu, 13, 19.
Conditions des infections, 108.
Congélation des liquides organiques, 20.
Congestines, 201.

Congre (sérum de), 162.
Conséquences de la fermentation, 43.
Consommation d'alexine, 278.
Contamination microbienne, 17.
Convalescence, 391.
Coqueluche (microbe de la), 278.
Coton, 6, 9.
Coton de verre, 9.
Coton poudre, 15.
Cow-pox, 312, 325.

Daboïa, 147. 151.
Décomposition, 41.
Décomposition cadavérique, 39.
Défense antimicrobienne, 345.
Défensive (capacité), 366.
Dépérissement, 19.
Déplacements microbiens, 31.
Désactivation du choléra-sérum, 258.
Désagrégation, 41.
Désanaphylaxie, 221.
Désassimilation microbienne, 36.
Désinfection, 12.
Destruction intraprotoplasmique des hématies, 294.
Déterminisme des expériences, 13.
Diapédèse, 299, 381, 383.
Diastase endocellulaire, 75.
Diastase exocellulaire, 75.
Diastases, 36, 66, 67, 77, 114, 118.
Diastases (propriétés des), 67.
Diastasique (action), 70.
Diastasique (fait), 69, 71.
Diastasoïdes, 120.
Digestion intracellulaire, 294.
Digestion intraleucocytaire, 380.
Diphtérie, 78, 114.
Diphtérie expérimentale, 93.
Diphtérie spontanée, 126.
Diphtérique (bacille), 79, 93, 106, 113.
Diphtérique (intoxication), 124.
Diphtériques (paralysies), 93.
Diphtérique (toxine), 123, 125, 156, 157, 165, 168.
Diplocoque, 2.
Dissémination des microbes, 17.
Dissociation fermentative, 69.
Division des microbes, 32.
Dose toxique, 29.
Douleur, 381.
Dysenterie, 126.
Dysenterie amibienne, 111, 126.
Dysenterie bacillaire, 126.
Dysentérique (bacille), 127.
Dysenterie épidémique (bacille de la), 126.
Dysentérique (toxine), 127.

Eau de levure, 4, 53.
Eau de levure alcalinisée, 7.
Eau oxygénée, 29.
Ebullition stérilisatrice, 3, 7.
Ecchymose, 347.
Endocellulaire (diastase), 75.
Endotoxine, 130.
Englobement des hématies, 293.
Englobement phagocytaire, 344, 345, 357.
Enzymoïdes, 120.
Épidémie de peste, 96.
Éponge, 201.
Érysipèle, 97.
Éther, 29, 48, 54, 70.
Étuve à air, 9.
Évolution d'une infection, 381.
Exaltation de virulence, 373, 387.
Excrétion microbienne, 36.
Exemple de choix, 57.
Exocellulaire (diastase), 75.
Expérimentale (maladie), 101.
Extraits d'organes, 137, 143.
Extraits microbiens, 327.

Fait diastasique, 69, 71.
Fait vital, 69, 71.
Famille patho-bactériologique, 103.
Fausses membranes, 78.
Fausses membranes (angine à), 99.
Ferment, 49.
Ferment acétique, 58, 71.
Fermentation acétique, 56.
Fermentation alcoolique, 39.
Fermentation ammoniacale, 63, 70.
Fermentation anaérobie, 62.
Fermentation butyrique, 60, 69.
Fermentation (cause de la), 41.
Fermentation (formule de), 41.
Fermentation lactique, 52.
Fermentation lactique (microbe de la), 53.
Fermentation panaire, 39.
Fermentations, 38.
Fermentation vineuse, 39.
Ferment lactique, 54, 55, 60.
Ferments alcooliques, 71.
Ferments butyriques, 71.
Ferments de l'urée, 71.
Fer (sels de), 25, 26.
Fièvre charbonneuse, 86.
Fièvre récurrente (spirille de la), 107, 296.
Fièvre typhoïde, 82.
Filament, 2.
Filtre, 9.
Filtres de porcelaine, 109.
Fixation de l'agglutinine, 250.
Fixation de l'alexine, 278.
Fixation de la toxine tétanique, 121.
Floculation, 251.
Fluorure de sodium, 29, 70, 72.
Forme active, 21.
Forme biologique des microbes, 14.
Forme inerte, 21.
Forme spore, 21.
Forme végétative, 21.
Formique (aldéhyde), 29.
Formule de fermentation, 41.
Four à flamber, 9.
Froid (action du), 20.

Gaines défensives, 378, 387.
Galactose, 67, 73.
Ganglions lymphatiques, 385.
Gélatine, 209.
Gélatino-anaphylaxie, 209.
Généralisation, 13.
Généralisation d'une infection, 386.
Génération spontanée, 1, 3.
Génération spontanée (capacité de), 9.
Globules de levure, 42.
Globules de pus, 384.
Glossina palpalis, 111.
Globulinlytique (sérum), 271.
Globulintoxique (sérum), 271.
Glycérine, 45.
Glycose, 47, 66, 67, 73.
Glycoside, 142.
Gonococcie, 77.
Gonocoque, 81, 106, 380.
Grain de blé, 19.
Graine végétale, 14.
Granuleuse (transformation) des vibrions, 255.

Hamadryas, 182.
Hemamoeba malariæ, 111.
Hématolyse, 129, 141, 264, 352.
Hématolysine, 266.
Hématolytique (action), 140, 148.
Hématozoaires du paludisme, 111.
Hémolysine, 266.

Hémorragine, 181.
Hépatotoxique (sérum), 254, 272.
Hérisson, 156, 157.
Hétéro-anaphylaxie, 214.
Hétéroloque (anaphylaxie), 212.
Hirudine, 136.
Homo-anaphylaxie, 214.
Homologue (anaphylaxie), 212.
Homonyme (sérum), 181.
Humeurs toxiques, 287.
Hura crepitans, 201.
Hydrocarbones, 33.
Hyperimmunité, 173.
Hyperleucocytose, 139, 388.
Hypermacrophagie, 388.
Hypermicrophagie, 388.
Hypochlorite de chaux, 166.
Hypoleucocytose, 139, 292.

Ichtyotoxine, 140.
Identification des vibrions, 257.
Immun (animal), 170.
Immunisation accrue, 315.
Immunisation antimicrobienne, 310.
Immunisation antirabique, 318.
Immunisation fractionnée, 315.
Immunisation mixte, 167, 330.
Immunisation peptonique, 135, 136.
Immunisation renforcée, 315.
Immunité absolue, 155, 284, 315.
Immunité acquise, 160, 284, 391.
Immunité acquise (mécanisme de l'), 334.
Immunité active, 186.
Immunité antimicrobienne active, 329.
Immunité antimicrobienne naturelle, 281, 335.
Immunité antimicrobienne passive, 329.
Immunité antipeptonique, 155.
Immunité antirabique, 330.
Immunité antitoxique, 154, 225.
Immunité antitoxique naturelle, 335.
Immunité cellulaire, 167, 169, 335, 359.
Immunité conditionnelle, 155, 156, 284.
Immunité croisée, 162.
Immunité diminuée, 331.
Immunité (établissement de l'), 163.
Immunité humorale, 167, 169, 335, 359.
Immunité maxima, 167.
Immunité naturelle, 142, 155, 284.
Immunité partielle, 155, 331.
Immunité passive, 186, 346.
Immunité (préparation d'), 368.
Immunité réduite, 331.
Immunité relative, 155.
Immunopsonine, 351, 388.
Immunsérum, 170, 260, 355.
Incoagulabilité du sang, 136, 138.
Incubation anaphylactique, 202, 207.
Index opsonique, 356.
Index phagocytaire, 356.
Indice opsonique, 356.
Infection bactéridienne, 91.
Infection (évolution d'une), 381.
Infection-intoxication, 129.
Infection locale, 121.
Infections microbiennes, 301.
Infections mixtes, 106, 123.
Infections secondaires, 106.
Infection staphylotétanique, 123.
Infection streptococcique, 129.
Inflammation, 381.
Influenza (bacille de l'), 107.
Infusoire, 2.

Inoculation sous dure-mèrienne, 319.
Inoculation (voie d'), 90.
Insolation, 23.
Instabilité de l'anaphylaxie du cobaye, 221.
Instantanéité de la neutralisation des toxines, 182.
Interversion, 67.
Interverti (sucre), 67.
Intraleucocytaire (digestion), 380.
Invasion leucocytaire, 292.
Invertine, 68, 74, 114.
Intoxication diphtérique, 124, 126.
Intoxication fruste, 141.
Intoxication générale, 121.
Intoxication nucléoprotéidique, 143.
Intoxication peptonique, 134, 135, 137, 138, 155.
Intoxication protéique, 138, 145.
Intoxications microbiennes, 301.
Intoxication tétanique, 116.
Iode, 29, 166.
Iodo-iodurée (solution), 166.

Jus de raisin, 39, 42, 47.

Lachesis lanceolatus, 148, 152.
Lactique (acide), 52.
Lactique (ferment), 54.
Lactique (fermentation), 52, 60.
Lactose, 40, 52.
Lactosés (liquides), 47.
Lait, 7, 10, 39, 52.
Lait dégraissé (anaphylaxie par le), 209.
Lèpre (bacille de la), 107.
Leucocidine, 129, 378, 384.
Leucocytaire (afflux), 357.
Leucocytaire (appel), 384.
Leucocytaire (invasion), 292.
Leucocytes, 307, 341, 349.
Leucocytes mononucléaires, 292.
Leucocytes polynucléaires, 291.
Leucolytique (sérum), 271.
Leucopénie, 292.
Leucotoxique (sérum), 271.
Levain, 39.
Lévulose, 67, 73.
Levure, 2, 42, 47, 65.
Levure de vin, 47, 65.
Levure-ferment, 49, 51.
Levures, 34.
Levure (signification de la), 42.
Liqueur de Gram, 166.
Liqueur diphtérotoxique, 123.
Liqueur tétanotoxique, 115, 117.
Liquide de Pasteur, 44, 47.
Liquide de Raulin, 25.
Liquide d'œdème, 259.
Lumière (action de la), 23.
Lumière froide, 23.
Lumière solaire, 23.
Lymphatiques (ganglions), 385.
Lymphe, 385.
Lymphocytes, 291.
Lymphogénèse, 139.

Macération de levure, 67.
Macération d'intestin, 137.
Macrophages, 292, 298, 335.
Maladie, 19.
Maladie expérimentale, 101.
Maladie typhique expérimentale, 338.
Maladies microbiennes, 76, 78.
Maladies microbiennes mixtes, 105.
Malique (acide), 31.
Malléine, 131, 333.
Maltopeptone, 54.
Maltose, 47, 73.
Mangouste, 156.
Manifestations chimiques, 77.

Manifestations cliniques, 77.
Manifestations de la vie des microbes, 18.
Manifestations vitales de la levure, 46.
Marmite de Papin, 8.
Matières organiques, 39, 41.
Maxima (température), 21.
Mécanisme de l'immunité naturelle, 300.
Mécanismes de l'immunité acquise, 334.
Méningite cérébro-spinale, 107.
Méningocoque, 107.
Mercure (bichlorure de), 29.
Mercure (sels de), 29.
Microbe, 2.
Microbe chimique, 77.
Microbe de la fermentation lactique, 53.
Microbe du choléra des poules, 85, 128.
Microbe du rouget du porc, 324, 339.
Microbe pathogène, 77.
Microbes anaérobies, 62.
Microbes atténués, 324.
Microbes-causes, 77, 78, 84.
Microbes de l'air, 15.
Microbes des eaux, 17.
Microbes des infusions, 1, 15, 20.
Microbes des poussières, 17.
Microbes du sol, 17.
Microbes filtrables, 109.
Microbes filtrants, 109.
Microbes hypothétiques, 110.
Microbes (origine des), 2.
Microbe-témoin, 78, 184.
Microbes thermophiles, 22.
Microbicide (action), 256.
Microbicide (pouvoir) des humeurs, 290.
Microbiennes (infections), 301.
Microbiennes (intoxications), 301.
Microbiennes (maladies), 76-78.
Microbiens (poisons), 30.
Micrococcus acidi lactici, 65.
Micrococcus gonorrheæ, 81.
Microcoque, 264.
Microorganismes spécifiques, 52.
Microphages, 292, 298, 335.
Minérales (substances), 24, 25.
Minéralien (régime), 34.
Minéraux (acides), 29.
Minima (température), 21.
Mobilité microbienne, 378.
Moelle rabique, 318, 371.
Moisissures, 2, 27, 34.
Mononucléaires (leucocytes), 292.
Mort, 19.
Mort apparente, 14, 19, 48.
Mort foudroyante, 138.
Morve, 333.
Morve (bacille de la), 107, 131.
Moules, 201.
Moustiques, 111.
Moût de brasserie, 42, 47.
Mouvements de décomposition, 41.
Mouvements microbiens, 30.
Multiplication de la levure, 46.
Multiplication des microbes, 32.
Murénides (sérum des), 139.
Mutabilité des actes chimiques de la vie des microbes, 27.
Mutabilité des microbes, 36.
Mycoderme du vinaigre, 57.

Naja bungarus, 150, 162.
Naja haje, 149, 162, 182.
Naja tripudians, 148.
Nature de la toxine tétanique, 119.
Nécrosante (action), 140, 148.

Néphrotoxique (sérum), 272.
Neurotoxine, 181.
Neurotoxique (sérum), 272.
Neutralisation des toxines, 177, 178, 182.
Nitrate d'argent, 28, 29.
Nitrates, 33.
Non-spécificité des protéo-anaphylaxies du lapin, 212.
Non-sporogènes (espèces), 22.
Nucléoprotéides, 139, 143.
Nucléoprotéidique (intoxication), 143.
Nutrition des microbes, 32.

Offensive (capacité), 366.
Ophtalmo-réaction, 333.
Opium, 343.
Opsonine, 299, 351, 388.
Opsonine normale, 351.
Opsonique (index), 356.
Opsonique (indice), 356.
Opsonique (pouvoir), 351, 356.
Opsonisants (sérums), 355.
Opsonisation, 352, 353.
Opsonisation spécifique, 352.
Optima (température), 21.
Organes (extraits d'), 137, 143.
Organiques (liquides), 3, 7.
Organiques (matières), 41.
Organique souvenir, 391.
Organisme (résistance de l'), 364.
Organotropie, 386.
Origine des antitoxines, 193.
Origine des microbes, 2.
Ostéomyélite, 97.
Ovo-anaphylaxie, 209.
Oxygène, 59, 63.
Ozone, 29.

Pain, 39.
Paludisme, 111.
Paralysies diphtériques, 93.
Parasites microscopiques, 110.
Parasitisme microbien, 77, 282.
Paratyphique (bacille), 104, 131, 327, 339.
Paratyphus, 104.
Parentérale (voie), 128, 202.
Passages, 370.
Pâte de farine, 39.
Patho-bactériologique (famille), 103.
Penicillium, 27.
Pepto-anaphylaxie, 209.
Pepto-anaphylaxie du chien, 209.
Peptone, 134, 142, 155, 209.
Peptone de Witte, 134.
Peptonique (immunisation), 135, 136.
Peptonique (intoxication), 134, 135, 137, 138, 155.
Peptotoxie, 138, 142.
Péripneumonie des bovidés, 108, 325.
Perméabilité capillaire, 381, 382.
Peste bubonique, 81, 95.
Peste (épidémie de), 96.
Peste pulmonaire, 95.
Pesteuse (culture), 130.
Pesteux (bacille), 81, 96, 106, 327.
Pesteux (bubon), 81.
Phagocytaire (englobement), 344.
Phagocytaire (index), 356.
Phagocytaire (propriété), 295.
Phagocytes, 295, 335.
Phénol, 29.
Phénomène d'Arthus, 203.
Phénomène de Pfeiffer, 256.
Phénomène de Richet, 201.
Phlegmatia alba dolens, 97.
Phlegmon, 97.
Phtisie, 97.

Plasma de peptone, 136.
Plâtre (bougie de), 9.
Pneumococcies, 107.
Pneumocoque, 106, 130.
Poisons, 19.
Poisons chimiques, 142.
Poisons microbiens, 30.
Poisons protoplasmiques, 30.
Poissons avariés, 127.
Polymorphes (affections), 97.
Polymorphisme clinique, 96.
Polynucléaires (leucocytes), 291.
Polypnée, 204.
Porcelaine d'amiante (bougie de), 9.
Porcelaine dégourdie (bougie de), 9.
Postulat biologique, 11.
Potasse, 26.
Poule refroidie, 308.
Poussières, 6, 15, 17.
Pouvoir antitoxique du sérum antidiphtérique, 174.
Pouvoir cytolytique, 270.
Pouvoir microbicide des humeurs, 286, 290.
Pouvoir opsonique, 351, 356.
Précipitable (substance), 242.
Précipitant (sérum), 237, 277.
Précipitation, 213.
Précipitation de la caséine, 52.
Précipitations spécifiques, 238.
Précipitine, 238.
Précipitines chimiques, 240.
Précipitines microbiennes, 240.
Précipitinogène, 242.
Préparation à la phagocytose, 355.
Préparation d'immunité, 368.
Présure, 252.
Préventive (action) du sérum, 186.
Proportions définies (loi des), 178.
Propriété amylolytique, 70.
Propriété ferment, 49.
Protéines du sérum, 210.
Protéines toxiques, 133, 142.
Protéique (intoxication), 138, 145.
Protéo-anaphylaxie, 212.
Protéo-anaphylaxie du chien, 219.
Protéoses, 134.
Protéotoxie, 138, 145, 148.
Protéotoxiques (venins), 145.
Protéoprécipitines, 240.
Protoplasma microbien, 32.
Protoplasmiques (poisons), 30.
Protozoaires, 110, 298.
Ptomaïnes, 128, 131.
Puerpérale (septicémie), 97.
Pureté d'une culture, 92.
Purulente (transformation), 389.
Pus bleu, 107.
Pus (globules de), 384.
Pustule maligne, 89.
Pus variolique, 370.
Putréfaction de la viande, 39.
Putréfactions, 1, 20, 39, 64.
Pyocyanique (bacille), 107, 247, 338.
Pyocyanique (maladie), 107.

Rabique (culture), 318.
Rabique (moelle), 318, 371.
Rage, 317, 322, 330.
Raisin (jus de), 39, 42, 47.
Rayons calorifiques, 23.
Rayons lumineux, 23.
Réaction de fixation de l'alexine, 278.
Réaction fébrile, 333.
Réactivation du choléra-sérum, 258.
Réceptivité, 283, 366.
Récidive, 310.
Récupération de virulence, 374.

Réfractaire (animal), 155, 169, 284.
Refroidissement des liquides organiques, 20.
Refroidissement des microbes, 20.
Régénération des toxines, 185.
Régime animalien, 34.
Régime minéralien, 34.
Régime végétarien, 34.
Rendement en alcool, 50.
Renforcement de virulence, 387.
Résistance, 366.
Résistance absolue, 366.
Résistance de l'organisme, 364.
Résistance relative, 366.
Résistants (animaux), 285.
Révélatrice (substance), 260.
Ricine, 167, 177.
Rougeole, 108.
Rougeur, 381.
Rubine, 167.

Saccharomyces cerevisiæ, 65.
Saccharomyces ellipsoïdeus, 65.
Saccharose, 47, 52, 66, 73.
Salive, 209.
Sang, 10.
Sang aseptique, 10.
Sang de peptone, 136.
Sang de rate, 86.
Sangsues (extrait de têtes de), 136.
Scarlatine, 108.
Scorpion (venin de), 180, 183.
Sels ammoniacaux, 33.
Sels de fer, 25, 26.
Sels de mercure, 29.
Sels de zinc, 25, 26.
Sensibilisatrice, 260, 352.
Sensibilisatrice spécifique, 354.
Sensibilisine, 251.
Sensible (animal), 155.
Septicémie, 89, 386.
Septicémie puerpérale, 97.
Septicémie typhique, 326.
Serpent-noir, 151.
Serpent-tigre, 151.
Séro-anaphylaxie, 203.
Séro-anaphylaxie du chien, 216.
Séro-anaphylaxie du cobaye, 220.
Séro-anaphylaxie du lapin, 203.
Séro-anaphylaxie passive, 218.
Séro-diagnostic, 249.
Séro-diagnostic de la syphilis, 279.
Sérothérapie antidiphtérique, 190.
Sérothérapie antitétanique, 189.
Sérothérapie antitoxique, 189.
Sérothérapie antivenimeuse, 191.
Sérum alexique, 275.
Sérum anti, 170.
Sérum antibactéridien, 347.
Sérum anticharbonneux, 329, 347.
Sérum anticholérique, 329, 349.
Sérum anticobraïque, 191.
Sérum antidiphtérique, 173, 175, 191.
Sérum antidysentérique, 329.
Sérum antiméningococcique, 329.
Sérum antimicrobien, 350.
Sérum antipesteux, 329.
Sérum antiplaquette, 271.
Sérum antipneumococcique, 349.
Sérum antipyocyanique, 349.
Sérum antistreptococcique, 329, 348, 350.
Sérum antitétanique, 190.
Sérum antityphique, 349.
Sérum autospermatotoxique, 271.
Sérum d'anguille, 139, 143, 144, 156.
Sérum de cheval, 203.
Sérum de congre, 162.
Sérum de torpille, 162.

Sérum globulinlytique, 271.
Sérum globulintoxique, 271.
Sérum hépatotoxique, 271.
Sérum homonyme, 181.
Sérum leucolytique, 271.
Sérum néphrotoxique, 272.
Sérum neurotoxique, 271.
Sérum spermatotoxique, 271.
Sérums agglutinants, 237, 355.
Sérums antimicrobiens, 329, 361.
Sérums antitoxiques, 172, 173, 361.
Sérums bactéricides, 336.
Sérums bactériolytiques, 259, 269.
Sérums cytolytiques, 270.
Sérums hématolytiques, 254, 269.
Sérums opsonisants, 355.
Sérums précipitants, 237, 277.
Sérums toxiques, 139.
Signification de la levure, 42.
Solution de Lugol, 166.
Solution iodo-iodurée, 166.
Souvenir organique, 391.
Spasmotoxine, 117.
Spécificité anaphylactique, 202.
Spécificité de la bactériolyse, 257.
Spécificité de l'agglutination, 248.
Spécificité de l'immunisation, 161, 344.
Spécificité des fermentations, 52, 54.
Spécificité des protéo-anaphylaxies du chien, 218.
Spécificité des sérums antitoxiques, 180.
Spécificité des sérums précipitants, 242.
Spermatotoxique (sérum), 271.
Spermatozoïdes, 294.
Spermophile, 101.
Spirille, 2.
Spirille de la fièvre récurrente, 107, 256, 296, 337.
Spirochète, 2.
Spirochète de Schaudinn, 107.
Spirochète pâle, 107, 111.
Spore (germination de la), 28.
Spores, 297.
Spores microbiennes, 14, 315.
Spores tétaniques, 306.
Sporogènes (espèces), 22.
Staphylococcique (suppuration), 104.
Staphylocoque, 2.
Staphylocoque pyogène, 104, 105, 106.
Staphylo-diphtérie, 106.
Stérilisation, 4, 8, 12, 17.
Stérilité absolue, 8.
Stérilité apparente, 13.
Stérilité réelle, 13.
Streptococcique (infection), 129.
Streptococcique (suppuration), 104.
Streptocoque, 2.
Streptocoque pyogène, 97, 103, 105, 129, 295, 339, 374, 379.
Strepto-diphtérie, 106.
Strepto-staphylococcie, 105.
Sublimé, 29.
Substance précipitable, 242.
Substance révélatrice, 260.
Substance sensibilisatrice, 260.
Substances anaphylactisantes du sérum, 210.
Substances minérales, 24.
Substances toxiques, 48.
Substances toxiques du sérum, 211.
Substance thermolabile, 258, 266.
Substance thermostabile, 258, 266.

Succinique (acide), 45.
Suc de bubons, 95.
Suc de levure, 72.
Sucre, 34.
Sucre de lait, 41, 47.
Sucre interverti, 67.
Sulfureux (acide), 29.
Suppuration, 104, 384.
Suppuration staphylococcique, 104.
Suppuration streptococcique, 104.
Survirulence, 387.
Suspension colloïdale, 243.
Symbiose, 123.
Syphilis (séro-diagnostic de la), 279.

Tartrique (acide), 35.
Taxisme, 31.
Témoin bactériologique, 79.
Température (action de la) sur les microbes, 20.
Température minima mortelle, 8.
Ternaires (aliments), 34, 47.
Terre d'infusoires (bougie de), 9.
Tétanine, 117.
Tétanique (intoxication), 116,
Tétaniques (spores), 306.
Tétanique (toxine), 115, 117, 125, 156, 157, 159, 165, 168.
Tétanos, 79, 114.
Tétanos (bacille du), 80, 94, 106, 112.
Tétanos expérimental, 94, 116.
Tétanos spontané, 121.
Tétanos traumatique, 94.
Tétanotoxine, 117.
Tétanotoxique (liqueur), 115, 117.
Théorie d'Ehrlich, 193, 195.
Thermolabile (substance), 258, 266.
Thermophiles (microbes), 22.
Thermostabile (substance), 258, 266.
Thrombose, 152.
Thrombose généralisée, 139.
Titre agglutinant d'un sérum, 247.
Titre précipitant d'un sérum, 247.
Torpille (sérum de), 162.
Toxicité des cultures tétaniques, 116.
Toxicité des liqueurs diphtérotoxiques, 124.
Toxine, 77.
Toxine diphtérique, 123, 125, 156, 157, 165, 168.
Toxine dysentérique, 127.
Toxines, 154.
Toxines (atténuation des), 165.
Toxines microbiennes, 112, 142.
Toxines microbiennes (anaphylaxie par les), 224.
Toxines modifiées, 165.
Toxine tétanique, 115, 117, 125, 156, 157, 159, 165, 168.
Toxine tétanique (fixation de la), 121.
Toxine tétanique (nature de la), 119.
Toxiques (humeurs), 287,
Traitement antirabique, 322.
Transformation purulente, 389.
Transformations granuleuses des vibrions, 255.
Transformations microbiennes, 36.
Travail chimique, 39.
Trichlorure d'iode, 166.
Trigonocéphale, 152.
Tropismes, 31.
Trypanosoma gambiense, 111.
Trypanosomes, 111, 298.
Tubercule, 384.
Tuberculeuses (affections), 98.

Tuberculeux (bacille), 97, 106, 131, 386.
Tuberculine, 131, 332.
Tuberculose, 98.
Tuberculoses cliniques, 98.
Tumeur, 381.
Typhique (bacille), 84, 103, 104, 106, 131, 245, 249, 305, 317.
Typhique (maladie) expérimentale, 338.
Typhique (septicémie), 326.
Typhoïde (fièvre), 82.

Unité clinique, 78.
Uréase, 71, 114.
Urée, 63, 70.
Urée (fermentation de l'), 71.
Urine, 10.
Urine aseptique, 10.

Vaccination, 310.
Vaccine, 312, 331, 371.
Vaccin jennérien, 312, 313, 325.
Vaccinothérapie, 328, 356.
Vaccins, 317.
Vaccins pasteuriens, 305, 317.
Vaccins (races de), 314.
Variabilité des actes de la vie, 46.
Variole, 108, 311.
Variole atténuée, 325.
Variole (épidémie de), 311.
Variolique (pus), 371.
Variolisation, 311, 325.
Vaso-dilatation, 381.
Végétarien (régime), 34.
Venin de Cobra, 166, 168.
Venins, 133, 145.
Venins curarisants, 148, 163.
Venins mixtes, 145.
Venins protéotoxiques, 145.
Viandes avariées, 127.
Vibrion, 2.
Vibrion avicide, 256, 343.
Vibrion butyrique, 61.
Vibrion cholérique, 77, 82, 101, 106, 245, 247, 255, 296, 326, 336, 341, 380.
Vibrion de Massaouah, 342.
Vibrion septique, 107.
Vie active, 14.
Vie aérobie, 50, 59.
Vie anaérobie, 50, 51.
Vieillissement des cultures du choléra des poules, 312.
Vieillissement des moelles rabiques, 321.
Vie latente, 14, 19, 48, 51.
Vin, 34.
Vinaigre, 56.
Vinaigre allemand, 58.
Vineuse (fermentation), 39.
Vipera Russellii, 146, 152.
Vipère (venin de), 156, 157.
Virulence (exaltation de la), 387.
Virulence exaltée, 373.
Virulence globale, 367.
Virulence microbienne, 364, 366, 376.
Virulence personnelle, 366, 370.
Virulence (renforcement de la), 387.
Virus fixe, 319.
Vital (acte), 70.
Vitales (manifestations) de la levure, 46.
Vital (fait), 71.
Vitaux (faits), 69, 71.
Voie d'inoculation, 90.
Voie d'introduction du sérum antitoxique, 187.
Voie parentérale, 128, 202.
Voile du vinaigre, 57.

Zinc (sels de), 25, 26.
Zymase, 74.
Zymases, 75.

CHARTRES. — IMPRIMERIE DURAND, RUE FULBERT.

MASSON ET Cie, ÉDITEURS
LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, PARIS

Octobre 1921.

NOUVEAU TRAITÉ DE MÉDECINE

PUBLIÉ SOUS LA DIRECTION DE MM. LES PROFESSEURS

G.-H. ROGER *F. WIDAL* *P.-J. TEISSIER*

Secrétaire de la Rédaction : *Marcel GARNIER*

Le Nouveau Traité de Médecine formera : **22** FASCICULES grand in-8°, de 300 à 500 pages avec nombreuses figures dans le texte, en noir et en couleurs, et planches hors texte en couleurs, sous une élégante 1/2 reliure toile dos plat et *paraîtra dans un délai de deux années.*

Viennent de Paraître : Juillet 1921

FASCICULE III. ***Maladies infectieuses*** (suite). 1 *vol. de* 564 *pages*, 62 *fig. et* 4 *pl. en couleurs, relié.* . . . **40** fr. **net**

FASCICULE VII. ***Avitaminoses. Maladies par agents physiques. Troubles de la nutrition.*** 1 *vol. de* 552 *pages avec figures*. . . . . **35** fr. **net**

Pr. 950. ***La Librairie Masson et Cie fait sur demande le service régulier de ses Bulletins de nouveautés médicales et scientifiques.***

Précédemment paru :

FASCICULE I. *Maladies infectieuses.* 1 *vol. de* 482 *pages avec* 55 *fig. dans le texte et* 3 *planches en coul., relié.* **35** fr. **net**

Pour paraître en 1921 :

FASCICULE II. *Maladies infectieuses* (*suite*).

FASCICULE IV. *Maladies infectieuses et parasitaires. — Cancer.*

FASCICULE V. *Maladies infectieuses et parasitaires.*

FASCICULE VI. *Intoxications.*

Tout le labeur de cette magnifique période médicale que fut la fin du XIXe siècle avait été condensé dans le monumental Traité de Médecine de Charcot-Bouchard-Brissaud, dont l'apparition marqua de son empreinte toutes les générations médicales de cette époque et rayonna bien au delà de nos frontières.

Si la médecine française de la fin du XIXe siècle fut grande, non moins haute, non moins brillante est la période actuelle et une génération qui, dans la série des grands progrès médicaux actuels, occupe une place de premier rang, ne pouvait que donner au monde une œuvre forte et s'acquitter brillamment d'un lourd héritage.

En présence de l'orientation actuelle de la médecine et de la transformation de nos méthodes d'investigation basées de plus en plus sur des conceptions biologiques, les méthodes de laboratoire ont rencontré un développement considérable et sont devenues la base de la médecine clinique.

On a voulu, dans ce Traité, apprendre au Médecin dans quel cas il doit recourir aux nouvelles méthodes d'exploration, et comment il doit interpréter les résultats qui lui sont communiqués. On a voulu surtout, en expliquant le mécanisme des troubles, en fournissant des explications indispensables au diagnostic, donner les indications du traitement : Le *Nouveau Traité de Médecine* fait une très large part à la *Thérapeutique*, à l'*Hygiène*, à la *Prophylaxie*.

PLAN DU FASCICULE I

G.-H. ROGER. *Notions générales sur les Infections.*
A. SACQUÉPÉE. *Les Septicémies.*
G.-H. ROGER. *Les Streptococcies.*
P. MENETRIER et H. STÉVENIN. *Pneumococcie.*
P. MENETRIER et H. STÉVENIN. *Pneumonie.*
M. MACAIGNE. *Staphylococcie. Entérococcie. Psittacose. Infections à Tétragènes ; à Cocco-bacilles ; à Diplobacilles ; à Protéus.*
A. VEILLON. *Infections putrides et gangreneuses.*
Ch. DOPTER. *Méningococcie.*
M. HUDELO. *Gonococcie.*

FASCICULE III

F. WIDAL, A. LEMIERRE et P. ABRAMI. *Fièvres typhoïde et paratyphoïdes.*
F. WIDAL et A. LEMIERRE. *Colibacillose.*
CH. DOPTER. *Dysenteries.*
M.-A. RUFFER et MILTON CRENDIROPOULO. *Choléra.*
SACQUÉPÉE. *Botulisme. Fièvre de Malte.*
R.-P. STRONG. *Fièvres des tranchées.*
P. MENETRIER et H. STÉVENIN. *Grippe.*
E. SACQUÉPÉE et GARCIN. *Peste.*
AZEVEDO SODRÉ. *Fièvre jaune.*

FASCICULE VII

G.-H. ROGER. *Vitamines et Avitaminoses.*
E.-P. BENOIT. *Scorbut.*
G. ARAOZ ALFARO. *Scorbut infantile.*
ALDO PERRONCITO. *La Pellagre.*
E. SACQUÉPÉE. *Béribéri.*
A. CALMETTE. *L'Intoxication par les venins; la sérothérapie.*
PH. PAGNIEZ. *Maladies déterminées par l'Anaphylaxie.*
PAUL COURMONT. *Maladie Sérique.*
J.-P. LANGLOIS et LÉON BINET. *Maladies par agents physiques.*
PAUL LE GENDRE. *Troubles et maladies de la nutrition.*

F. TERRIEN
Professeur agrégé à la Faculté de Médecine de Paris,
Ophtalmologiste de l'hôpital Beaujon.

Chirurgie de l'Œil

et de ses Annexes

DEUXIÈME ÉDITION ENTIÈREMENT REFONDUE

1 *vol. de* 620 *pages avec* 495 *figures*. . . . . **50** fr. **net.**

La chirurgie de l'œil est à la fois très précise et très délicate, d'où la nécessité, pour atteindre le maximum de netteté dans l'opération, de connaître toutes les indications et les contre-indications opératoires, les soins à donner à l'opéré en cas normal et dans les complications si fréquentes qui suivent l'intervention. Ces *indications opératoires* et *la technique* sont décrites dans cet ouvrage avec le souci d'être complet, en un mot de réaliser un "*Traité*" de chirurgie oculaire.

Après avoir rappelé les précautions à prendre avant toute intervention et les notions anatomiques essentielles, sont exposées dans tous leurs détails les opérations pratiquées sur le globe et sur les annexes.

Les Techniques nouvelles sont décrites avec tout le développement qu'elles méritent. L'ouvrage est abondamment illustré réalisant un enseignement complet par l'image.

Notions préliminaires. — Technique préopératoire, Anatomie chirurgicale du globe.

1re *Partie. Opérations sur le globe oculaire.* — Opérations sur la cornée — sur la sclérotique — sur l'iris — Opération de la cataracte — Complication de l'opération de la cataracte, prophylaxie, etc. — Opérations sur la totalité du globe oculaire.

2e *Partie. Opérations sur les annexes du globe oculaire.* — Opérations pratiquées sur les muscles — sur la conjonctive — sur l'appareil lacrymal — sur l'orbite — sur les paupières.

G. MARION

Professeur agrégé à la Faculté de Médecine de Paris
Chirurgien du service Civiale (Hôpital Lariboisière).

Traité d'Urologie

2 vol. grand in-8 formant ensemble 1050 pages, avec 418 figures en noir et en couleurs dans le texte et 15 planches hors texte en couleurs formant 81 figures. Reliés toile. . **120 fr. net**

TOUT ouvrage traitant d'une spécialité est nécessairement *médico-chirurgical.* Mais l'Urologie est de tous les domaines de la médecine celui où les activités parallèles ou convergentes du Médecin et du Chirurgien sont le plus directement intéressées. Le livre du Dr Marion se présente comme un *Traité complet d'Urologie* et embrasse à la fois la description clinique des maladies, les procédés d'examens, d'exploration et de diagnostic, l'anatomie pathologique, enfin et surtout le traitement médical et la technique de l'intervention chirurgicale ; c'est dire qu'il s'adresse non pas seulement au spécialiste des maladies des voies urinaires, qui, tout le premier, ne pourra se dispenser d'y recourir pour améliorer, élargir ou affirmer sa technique, mais encore à tout médecin qui veut éclairer ou enrichir sa pratique de toutes les connaissances qui dans le domaine restreint d'une spécialité évoluent si vite et gagnent chaque jour en précision, en sécurité et en efficacité.

Le livre du Dr Marion se devait de posséder une illustration parfaite : celle-ci, sauf quelques figures en couleurs d'anatomie classique empruntées à Albarran et qui ne sauraient être surpassées, en dehors de quelques images urétro-cystoscopiques des Drs Demonchy et Henry, est entièrement originale : elle a été exécutée sous la direction effective de l'auteur. L'effort iconographique a été favorisé d'une impression impeccable, en noir et en couleurs, sur beau papier.

CHIRURGIE RÉPARATRICE ET ORTHOPÉDIQUE

APPAREILLAGE ET INVALIDITÉS

OUVRAGE PUBLIÉ SOUS LA DIRECTION DE MM.

JEANBRAU, NOVÉ-JOSSERAND et OMBRÉDANNE
Professeurs agrégés aux Facultés de Montpellier, de Lyon et de Paris.

Secrétaire de la Rédaction : *DESFOSSES*
Chirurgien de l'hôpital britannique à Paris.

Par ATHANASSIO-BENISTY (Mme LE Dr.), MM. BAUMGARTNER, BINET (P.). BRÉCHOT, CALVÉ, CESTAN, CHEVRIER, CLAUDE, COTTE, CUNÉO, DAMBREN, DESFOSSES, DUCROQUET, DUJARIER, DUVERGEY, FREDET, FRŒLICH, GROS, GUYOT, HENDRIX, IMBERT, JEANBRAU, LAMBRET, LAROYENNE, LECÈNE, LEDOUX-LEBARD, LEFORT, LEMAITRE (R.), LERICHE, LHERMITTE, MARION, MOUCHET, NOVÉ-JOSSERAND, OMBRÉDANNE, PATEL, POLICARD, PONT, RÉAL, ROTTENSTEIN, ROUX-BERGER, SARGNON, SENCERT, SICARD, SILHOL, TAVERNIER, TRÈVES, VALOIS, VILLARET.

2 vol. in-8, formant ensemble 1340 *pages avec* 1040 *fig.* **80** *fr.* **net**

CET ouvrage auquel 48 chirurgiens ont collaboré renferme la pratique chirurgicale nécessaire à tous les accidents. Il ne constitue pas une « Chirurgie de Guerre » d'un intérêt rétrospectif, mais applique d'une façon pratique les enseignements récents aux nouveaux problèmes de la paix.

F. LEJARS

Traité de Chirurgie d'Urgence

HUITIÈME ÉDITION

1 vol. de 1120 pages, grand in-8°, avec 1100 figures dans le texte, en noir et en couleurs, et 20 planches hors texte en deux tons

Broché, sous couverture forte . . . . . **75 fr. net**

Édition de luxe sur beau papier couché, relié toile pleine, fers spéciaux, en deux volumes . . . . . **90 fr. net**

C'EST la *huitième édition* du *Traité de chirurgie d'Urgence* qui reparaît en librairie. A ces éditions il convient d'en ajouter six en langues étrangères souvent rééditées d'ailleurs. En raison des enseignements de toute nature que les dernières années ont apportés, un tel livre ne pouvait être publié de nouveau que profondément remanié pour être digne de la carrière exceptionnelle qu'il a déjà parcourue.

Tous les chapitres de cette huitième édition ont été revus, élagués, précisés, d'après l'expérience acquise et les données nouvelles. L'auteur applique à la chirurgie du temps de paix les enseignements de la guerre, en particulier, pour le *traitement des plaies viscérales*, — *des plaies des parties molles*, — *des grands écrasements*, — *pour le traitement des hémorragies*, — la *technique des ligatures*, — pour le *traitement des fractures*, — les indications et le mode d'emploi de tant d'appareils récents, qui devraient rester dans la pratique courante,

Georges **GÉRARD**
Agrégé des Facultés de Médecine
Professsur d'Anatomie à l'Université de Lille.

Manuel d'Anatomie Humaine

DEUXIÈME ÉDITION

1 *vol. in-8 de* 1275 *pages, avec* 1025 *figures en noir et en couleurs et* 4 *planches en couleurs* . . . . . **75 fr. net**

Ce manuel destiné principalement aux étudiants en médecine est publié comme dans la première édition *en un seul volume* et résume toute l'Anatomie du corps humain suffisante et nécessaire. Dans ce but à côté de la description du cadavre l'Auteur s'est attaché dans tous les points où ils pouvaient éclaircir l'anatomie du vivant à recourir aux documents de la clinique tant spéciale que générale, en risquant quelques aperçus pratiques en relation avec elle.

La précision du texte, sa concision, en même temps que sa clarté permettent aux étudiants de revoir rapidement une question et de trouver sans perte de temps un détail, un rapport anatomique.

Dans cette Deuxième Édition l'Auteur a conservé intégralement le plan général de la première, plan qui avait été pour une grande partie dans le succès de l'ouvrage, mais différentes parties ont été retouchées dans leurs plus minutieux détails au double point de vue du texte et de l'illustration.

L. LANDOUZY Léon BERNARD

Eléments d'Anatomie et de Physiologie Médicales

DEUXIÈME ÉDITION PUBLIÉE SOUS LA DIRECTION DE

LÉON BERNARD

Professeur à la Faculté de Médecine de l'Université de Paris

PAR MM.

LÉON BERNARD, GOUGEROT,
HALBRON, S. I. DE JONG, LAEDERICH, LORTAT-JACOB,
SALOMON, SÉZARY, VITRY

1 *vol. de* 867 *pages avec* 337 *fig. et* 4 *pl. en couleurs.* **50** fr. **net**

JUSQU'A l'apparition des *Éléments d'Anatomie* et de *Physiologie médicales* en 1913, l'*Anatomie médicale* n'avait jamais été traitée dans un ouvrage spécial. Ce livre répondait à un tel besoin qu'en pleine guerre, dès 1915, il était épuisé.

Ces éléments d'Anatomie et de Physiologie médicales rassemblent pour l'étudiant des données éparses dans les ouvrages traitant de diverses branches des sciences médicales. Ils réunissent suivant une méthode clinique dans un enseignement particulier toutes les notions fondamentales d'Anatomie et de Physiologie susceptibles par leur application immédiate à la pathologie, d'éclairer le médecin sur le mécanisme des troubles fonctionnels comme sur les symptômes qui les révèlent.

Bien que depuis quelques années on n'ait eu à enregistrer d'importantes notions nouvelles d'anatomie et de physiologie, cette nouvelle édition entièrement revue a subi plusieurs modifications.

R. LUTEMBACHER

Les nouvelles Méthodes d'Examen du Cœur en Clinique

1 *vol. de* 186 *pages, avec* 138 *figures originales*. . **20** fr. **net**

Les méthodes graphiques et la radioscopie sont le complément indispensable de l'examen clinique dans l'étude des cardiopathies. Ce sont des méthodes *d'exploration fonctionnelle*.

Dans la première partie du livre sont réunis 75 tracés originaux, chacun d'eux est progressivement déchiffré avec le lecteur, qui apprend ainsi à *identifier* chaque type d'arythmie. Ensuite sont décrites les *épreuves* nécessaires pour préciser leur nature.

La deuxième partie est réservée à l'interprétation des schémas radioscopiques. En regard de chacun d'eux se trouve la photographie des pièces anatomiques auxquelles elles correspondent.

Prof. VIGGO CHRISTIANSEN

Médecin de l'Hôpital royal de Danemark
Correspondant de la Société de Neurologie.

Les Tumeurs du Cerveau

Préface du professeur Pierre MARIE

1 *vol. de* 353 *pages avec* 100 *figures*. . . . . **25** fr. **net**

Nous ne possédions jusqu'à ce jour en France aucun livre récent sur les Tumeurs cérébrales qui puisse donner de cette question de pathologie nerveuse une idée nette et exacte. On trouvera dans cet ouvrage la question du diagnostic précoce et celle de la justification d'une intervention chirurgicale.

A. BRACHET
Professeur à l'Université de Bruxelles
Correspondant de l'Institut.

Traité d'Embryologie

des Vertébrés

1 *vol. de 602 pages avec 567 figures.* . . . . . **60 fr. net**

En France, et en français, l'Embryologie n'a pas été mise à la portée du public depuis une date déjà éloignée. Des grands traités d'Anatomie ou de Physiologie renferment bien soit une introduction embryologique générale, soit des introductions embryologiques pour des chapitres importants, mais l'Embryologie n'y est envisagée que comme un moyen, comme une base indispensable aux développements histologiques ou anatomiques, elle n'y est donc exposée que de façon sommaire et souvent unilatérale.

Il a semblé au Professeur Brachet que l'Ontogénèse des vertébrés étant à l'heure actuelle une science avancée où nombre de faits et d'idées peuvent être considérés comme définitivement acquis la publication de cet important traité comblerait une lacune et serait utile à ceux qu'intéresse les questions de Morphogenèse.

La partie générale est consacrée aux premières phases de l'évolution ontogénétique des vertébrés et à l'établissement des grandes lois fondamentales dont elles sont la conséquence.

Dans la partie spéciale, les chapitres qui ont un intérêt proprement embryologique sont exposés avec ampleur.

De très nombreuses figures illustrent ce livre. A la fin de chaque chapitre l'auteur a placé un index bibliographique des ouvrages les plus spécialement utilisés et les plus récents. Le lecteur y trouvera un exposé historique des questions traitées.

A. MARTINET

Diagnostic Clinique

Examens et Symptômes,

avec la collaboration des Docteurs :

DESFOSSES, G. LAURENS, LÉON MEUNIER
LUTIER, SAINT-CÈNE, TERSON

TROISIÈME ÉDITION REVUE ET COMPLÉTÉE

1 *vol. grand in-8 de* 1040 *pages avec une riche illustration de* 851 *figures dont* 31 *en couleurs*. . . . . **55** fr. **net.**

PARMI les ouvrages médicaux parus depuis la guerre, le Diagnostic Clinique du Dr Martinet a connu le plus grand succès.

La première partie du Manuel apprend à examiner le malade.

Dans la seconde partie, en 55 chapitres, sont étudiés, dans le but d'éclairer la clinique, tous les symptômes sous la forme où ils s'observent

La deuxième édition de cet ouvrage avait été très augmentée. En dehors des remaniements innombrables, la 3e édition comprend trois chapitres nouveaux et un quatrième entièrement refait.

A. MARTINET

Eléments de Biométrie

DEUXIÈME ÉDITION REVUE ET AUGMENTÉE

1 *vol. in-8 de* 220 *pages, avec figures et tableaux.* **12** fr. **net**

Dr A. MARTINET

Thérapeutique Clinique

Avec la collaboration de

MM. G. LAURENS, DESFOSSES, Léon MEUNIER, LOMON, LUTIER, MARTINGAY, MOUGEOT et SAINT-CÈNE.

2 *vol. in-8° formant ensemble* 1340 *pages avec* 312 *figures dans le texte et de nombreux tableaux* . . . . . **70** fr. **net**

Ce volume est le complément logique et nécessaire du « *Diagnostic clinique* » du Dr Martinet. Il a été conçu dans le même esprit « pragmatique », réalisé typographiquement, dans des conditions identiques. Les deux volumes ne constituent, à proprement parler, qu'une même œuvre : un manuel de pratique médicale d'un plan essentiellement nouveau, adéquat aux exigences cliniques. — La méthode générale d'exposition est la même dans les deux ouvrages, et constitue une synthèse entre les nécessités de l'exposé scientifique et l'aspect concret que présentent les cas particuliers de la pratique.

La première partie de l'ouvrage : *Agents thérapeutiques*, apprend à connaître les armes chimiques, alimentaires, physiques, psychiques dont le thérapeute dispose dans sa lutte contre la maladie.

La thérapeutique actuelle exige la mise en œuvre de *Techniques thérapeutiques*, chaque jour plus nombreuses, qui font l'objet de la *deuxième partie*.

La troisième partie : *Thérapeutique des symptômes* s'apparente plus étroitement encore au *Diagnostic clinique*. Les symptômes morbides classés par ordre alphabétique, et présentés comme dans un véritable *Dictionnaire de thérapeutique*, sont successivement étudiés, et pour chacun d'eux tous les traitements sont exposés dans les détails les plus minutieux.

La quatrième partie enfin est consacrée à la *Thérapeutique des maladies*. Le Dr Martinet y donne un exposé clair, succinct et substantiel de l'état actuel de la thérapeutique propre à chaque maladie en particulier.

Gaston LYON
Ancien Chef de Clinique médicale à la Faculté de Paris.

Traité élémentaire de Clinique Thérapeutique

DIXIÈME ÉDITION

1 *fort volume grand in-8° de* 1840 *pages, broché* . . . . . 65 fr. net
Relié toile . . . . . 70 fr. net

OUTRE les modifications nécessitées par l'étude des maladies de guerre, le Dr G. Lyon en a apporté de nombreuses, relatives notamment aux *maladies de l'œsophage,* aux *spasmes de l'estomac*, aux *ptoses,* aux *tachycardies*, à la *poliomyélite aiguë,* à l'*encéphalite léthargique*, au traitement de la *syphilis*.

G. LYON
Ancien Chef de clinique à la Faculté de Médecine.

P. LOISEAU
Ancien préparateur à l'École Supérieure de Pharmacie.

Formulaire Thérapeutique

12e Édition 1921

1 *volume de* 863 *pages* . . . . . 25 fr. net

CETTE nouvelle édition du Formulaire a été revisée avec soin. Elle contient toutes les applications thérapeutiques nouvelles et les modifications apportées au codex de 1908 par le supplément de 1920.

A. B. MARFAN
Professeur à la Faculté de médecine de Paris,
Médecin de l'Hôpital des Enfants Malades,
Membre de l'Académie de Médecine.

3e Édition

Traité de l'Allaitement et de l'Alimentation des Enfants du premier âge

1 *vol. in-8 de 926 pages avec 21 figures.* . . . . . 45 fr. net.

CET ouvrage qui comprend quatre parties (biologique, hygiénique, médicale et sociale) constitue véritablement une Encyclopédie de nos connaissances sur un sujet dont l'importance sociale est grande. Les médecins trouveront dans cette nouvelle édition un nouvel ouvrage contenant l'exposé de toutes les recherches nouvelles.

P. NOBÉCOURT
Professeur de Clinique médicale des Enfants à la Faculté de Médecine de Paris,
Médecin de l'Hôpital des Enfants-Malades.

G. SCHREIBER
Ancien interne des Hôpitaux de Paris,
ancien chef de Clinique infantile
adjoint à la Faculté de Médecine de Paris.

Hygiène Sociale de l'Enfance

1 *vol. de 600 pages avec 129 figures dans le texte.* 30 fr. net

L'OUVRAGE de MM. Nobécourt et Schreiber est le premier de ce genre ; il englobe toute l'hygiène sociale de l'enfance depuis la naissance jusqu'à l'âge adulte. Il est le premier contenant la documentation nécessaire à la formation des médecins spécialistes, puériculteurs, médecins scolaires, hygiénistes, pédiatres, des personnes se destinant aux carrières sociales (infirmières, visiteuses scolaires, directrices de crèches, de pouponnières, de chambres d'allaitement, etc.).

LÉON BERNARD

Professeur à la Faculté de Médecine de Paris,
Médecin de l'hôpital Laënnec,
Membre de l'Académie de Médecine.

La Tuberculose pulmonaire

Etudes de Phtisiologie clinique et sociale

1 *vol. de* 258 *pages*. . . . . **12** fr. **net**

Ce livre n'est pas un traité de la Tuberculose Pulmonaire, mais le professeur Léon Bernard donne un aperçu complet de sa façon de comprendre la maladie, d'interpréter sa physionomie clinique si diverse, de formuler ses méthodes de traitement et ses modes de prévention.

Cet ouvrage a été écrit pour les médecins et les infirmières spécialisés des institutions antituberculeuses, mais aussi pour les médecins et étudiants non spécialisés.

Dr MANOEL DE ABREU

Radiodiagnostic

dans la Tuberculose Pleuro-Pulmonaire

Préface du Dr RIST
Médecin de l'hôpital Laënnec.

1 *vol. de* 168 *pages avec* 31 *figures dans le texte et* 16 *planches radiographiques hors texte originales*. . . . . **15** fr. **net**

Il n'existait pas, en France tout au moins, un « *Précis de Radio-Diagnostic de la Tuberculose Pleuro-Pulmonaire* ».

Ce livre écrit sous les auspices du Docteur Rist et dans les Services de l'Hôpital Laënnec est le fruit d'une collaboration particulièrement intéressante du point de vue clinique pur et de la technique radioscopique la plus perfectionnée et la plus moderne.

André THOMAS
Médecin de l'Hôpital Saint-Joseph
Vice-Président de la Société de Biologie.

Le Réflexe Pilo-Moteur

Etude Anatomo-Clinique sur le Système Sympathique

1 *volume de* 242 *pages avec* 74 *figures et* 12 *planches en noir et en couleurs*. . . . . **25** fr. **net**

CET ouvrage est le résultat de travaux nombreux d'ordre clinique et anatomique et constitue une documentation précieuse consacrée à la plus récente acquisition de la Neurologie française; il intéresse la Sémiologie et la Physiologie de l'ensemble du système sympathique.
Les Cliniciens comme les Neurologistes et les Physiologistes seront intéressés par cet ouvrage.

H. C. HALL
Ancien chef de Clinique à « l'Hôpital de Bispebjaerg » (Copenhague)
Chef de Laboratoire à l'Institut Sérothérapique de l'Etat Danois.

La Dégénérescence Hépato-Lenticulaire

Maladie de Wilson — Pseudo-Sclérose

Préface du professeur Pierre MARIE

1 *volume de* 362 *pages avec* 44 *figures*. . . . . **20** fr. **net**

CE livre original, écrit directement en français par l'éminent spécialiste danois, est une étude clinique, physiologique et anatomo-pathologique de la maladie de Wilson et des questions discutées par la neurologie contemporaine.

E. LAMBLING
Professeur à la Faculté de Médecine de l'Université de Lille.

Précis de Biochimie

TROISIÈME ÉDITION REVUE

1 *vol. de* 723 *pages, broché* . . . . . 23 fr. net
Cartonné . . . . . 25 fr. net

BIEN que suivant de près la précédente, cette troisième édition a reçu des additions ou des modifications importantes. « *Alcalinité ionique du sang.* » « *Problème des vitamines.* » « *État colloïdal.* » « *Oxydo-réductions.* » « *Travail pepsique.* » « *Elevage aseptique.* » « *Amines dites protéinogènes.* » « *Pigments sanguins.* » « *Dégradation des acides aminés.* » « *Créatinine.* » « *Métabolisme des graisses.* » « *Urobilinurie normale et pathologique.* » « *Hématoporphyrinurie.* » *Etc.*

Marcel LABBÉ
Professeur de pathologie générale à la Faculté de Paris,
Médecin de l'Hôpital de la Charité.

Le Diabète sucré

Etudes cliniques, Physiologiques, Thérapeutiques

1 *vol. de* 376 *pages avec* 8 *figures hors texte* . . . 20 fr. net

SE basant sur une méthode d'observations précise le Prof. Labbé montre comment reconnaître le diabète sans dénutrition et le diabète avec dénutrition azotée, comment établir le pronostic et le traitement. Ces études intéresseront à la fois le physiologiste et le médecin praticien. Il étudie ensuite quelques formes spéciales et passe en revue les principales complications.

Maurice **ARTHUS**
Professeur de Physiologie à l'Université de Lausanne.

De l'Anaphylaxie à l'Immunité

Anaphylaxie — Protéotoxies — Envenimations
Anaphylaxie-Immunité — Sérums antivenimeux

1 *vol. de* 361 *pages*. . . . . **20** fr. **net.**

Nouveauté

Maurice **ARTHUS**
Correspondant National de l'Académie de Médecine,
Professeur de Physiologie à l'Université de Lausanne.

Précis de Physiologie Microbienne

1 *volume de* 408 *pages DE LA COLLECTION DE PRÉCIS MÉDICAUX. Broché*. . . **17** fr. *Cartonné*. . . **19** fr.

Les ouvrages de Physiologie du professeur Arthus ont toujours obtenu un succès complet dans le monde des Etudiants et ont nécessité de nombreuses rééditions. Ce précis de Physiologie Microbienne a été écrit spécialement pour eux afin qu'ils aient sous la main un manuel moins technique, moins chargé d'érudition et de théories, plus expérimental en un mot que la plupart des ouvrages de biologie et de microbiologie analogues.

MASSON ET Cᵉ, ÉDITEURS

COLLECTION "LES SCIENCES D'AUJOURD'HUI"

La Médecine

par H. ROGER
Doyen de la Faculté de Médecine de Paris.
Membre de l'Académie de Médecine.

1 *volume in*-8, *de* 430 *pages* . . . . . 10 fr. net

La Physiologie

par MAURICE ARTHUS
Correspondant National
de l'Académie de Médecine.
Professeurde Physiologie
à la Faculté de Médecine de Lausanne.

1 *volume in*-8, *de* 434 *pages* . . . . . 10 fr. net

H. BERTIN-SANS
Professeur
a la Faculté de Montpellier

Dr M. F. CARRIEU
Chef de clinique
à la Faculté de Médecine de Montpellier.

Prophylaxie des maladies transmissibles

1 *volume de* 254 *pages*. . . . . 10 fr. net

Mlle CHAPTAL
Directrice de la Maison-école des infirmières privées.

Le Livre de l'Infirmière

Traduction de l'ouvrage anglais de Miss OXFORD
2ᵉ édition corrigée et très augmentée.

1 *volume de* 348 *pages*. . . . . 10 fr. net

CONÇU pour l'usage des Écoles d'Infirmières, assez clair pour être mis aux mains des débutantes, ce livre contient l'essentiel de ce que doit savoir et retenir une praticienne du soin des malades au long de sa vie professionnelle (*maladies sociales, hygiène sociale, études des lois d'assistance récentes*).

P. RUDAUX

Accoucheur de la maternité de l'hôpital Boucicaut.

Précis d'Anatomie, de Physiologie et de Pathologie élémentaires

4e édition. 1 vol. de 828 pages avec 580 figures . . . . . **24** fr. net

Précis de Pathologie Chirurgicale

PAR MM. P. BÉGOUIN, H. BOURGEOIS, P. DUVAL, GOSSET, E. JEANBRAU, LECÈNE, LENORMANT, R. PROUST, TIXIER

Professeurs aux Facultés de Paris, Bordeaux, Lyon et Montpellier.

TROISIÈME ÉDITION, REVUE ET AUGMENTÉE

TOME I. — **Pathologie chir. générale, Tissus, Crâne et Rachis.**

1 volume de 1152 pages avec 387 figures.

TOME II. — **Tête, Cou, Thorax.**

1 volume de 890 pages avec 385 figures.

TOME III. — **Glandes mammaires, Abdomen, Appareil génital de l'homme.**

1 volume de 1068 pages avec 320 figures.

TOME IV. — **Appareil urinaire, Gynécologie, Fractures et luxations, affections des membres.**

1 volume de 1162 pages avec 384 figures.

Prix de chacun des volumes. Broché . . . . . **25** fr. net

Cartonné toile . . . . . **28** fr. net

G.-H. ROGER
Professeur à la Faculté de Médecine de Paris,
Médecin de l'Hôtel-Dieu, Membre de l'Académie de Médecine.

Introduction à l'Etude de la Médecine

7e *édition*. 1 *vol. de* 812 *pages, broché*. **22** fr. net; *cartonné*. **25** fr. net

H. ROUVIÈRE
Professeur agrégé, Chef des travaux anatomiques à la Faculté de Médecine.

Anatomie et Dissection

Tome I. — 3e édition : Tête, cou, membre supérieur.
Tome II. — 3e édition : Thorax, abdomen, bassin, membre inférieur.
Chaque volume. . . . . *Broché* **22** fr. net; *cartonné* **25** fr. net

POIRIER
Professeur d'Anatomie à la Faculté.

BAUMGARTNER
Ancien Prosecteur

Dissection

3e *édition*. 1 vol. de XXIII-360 pages, avec 241 figures dans le texte.
Broché . . . . **10** fr. net ; *cartonné* . . . . . **12** fr. net

Aug. BROCA
Professeur d'opérations et appareils à la Faculté de Médecine de Paris.

Précis de Médecine Opératoire

2e *édition*. 510 *figures dans le texte, broché*. . . . . **14** fr. net.
cartonné . . . . . **16** fr. net.

M. LETULLE
Professeur à la Faculté de Paris.

L. NATTAN-LARRIER
Ancien chef de Laboratoire à la Faculté.

Anatomie Pathologique

Tome I. — *Histologie générale. App. circulatoire, respiratoire.*
940 *pages*, 248 *figures originales*. *Broché*. . . . . **16** fr. net
Cartonné. . . . . **19** fr. net

G. WEISS
Professeur à la Faculté de Paris.

Physique biologique

4e édition, 566 pages, 575 figures. *Broché.* . . . . . **11 fr. net**
Cartonné. . . . . . **13 fr. net**

M. ARTHUS
Professeur de Physiologie à l'Université de Lausanne.

Physiologie

6e édition. 1 vol. de 978 pages et 326 figures. *Broché.* . **25 fr. net**
Cartonné. . **28 fr. net**

M. ARTHUS
Professeur de Physiologie à l'Université de Lausanne.

Chimie physiologique

9e édition. 1 vol. de 452 pages, 115 fig., et 5 planches.
Broché. . **20 fr. net**; *Cartonné.* . **22 fr. net**

M. ARTHUS
Professeur de Physiologie à l'Université de Lausanne.

Physiologie Microbienne

1 vol. de 408 pages, broché . . . . . **17 fr.**
Cartonné. . . . **19 fr.**

M. LAMBLING
Professeur à la Faculté de Médecine de Lille.

Biochimie

3e Édition, 1 vol. de 408 pages, broché . . . . . **25 fr.**
Cartonné. . . . . **27 fr.**

PRÉCIS MÉDICAUX

F. BEZANÇON
Professeur à la Faculté de médecine de Paris.

Microbiologie Clinique

3e *édition entièrement refondue.* 1 *vol. de* 600 *pages avec* 200 *figures dans le texte et* 7 *planches hors texte en couleurs.*
Broché. . . . **30** fr. net — *Cartonné.* . . . **35** fr. net

M. LANGERON
Chef de Laboratoire à la Faculté de Médecine de Paris.

Microscopie

3e *édition.* 1 *vol. de* 916 *pages avec* 292 *figures.*
Broché. . . . . **30** fr. net — *Cartonné.* . . . . **34** fr. net

L. BARD
Professeur de clinique médicale à l'Université.

Examens de Laboratoire
employés en Clinique

4e *édition.* 1 *vol. in-8 de* 830 *pages avec* 162 *figures. Broché.* **32** fr. net
Cartonné. **35** fr. net

A. RICHAUD
Professeur agrégé à la Faculté de Médecine de Paris.
Docteur ès sciences.

Thérapeutique et Pharmacologie

5e *édition.* 1 *vol. de* 1016 *pages, broché.* **27** fr. net; *cartonné.* **30** fr. net

J. COURMONT
Professeur d'hygiène à la Faculté de Médecine de Lyon.

Précis d'Hygiène

2e *édition,*
revue par Paul COURMONT, *professeur d'hygiène à la Faculté de Lyon,*
et A. ROCHAIX, *chargé de cours,*
chef des travaux à la Faculté de Médecine de Lyon.
1 *vol. de* 880 *pages avec* 227 *figures. Broché* **32** fr. net. *Cartonné* **35** fr. net

Ét. MARTIN
Professeur à la Faculté de Lyon.

Déontologie et Médecine professionnelle

1 *vol. de* 316 *pages, broché*. . . . **6** fr. net; *cartonné*. . **8** fr. net

LACASSAGNE
Professeur de médecine légale
à l'Université de Lyon.

Étienne MARTIN
Professeur agrégé
à la Faculté de Médecine de Lyon.

Médecine Légale

3e *édition*. 1 *vol. de* 752 *pages, avec* 115 *fig*. *Broché*. . . **27** fr. net
Cartonné. . **30** fr. net

KIRMISSON
Professeur à la Faculté de Paris.

Chirurgie infantile

2e *édition*, 796 *pages*, 475 *figures*. *Broché*. . . . . **12** fr. net
Cartonné. . . . . **15** fr. net

NOBÉCOURT
Professeur agrégé à la Faculté de Médecine de Paris.

Médecine des Enfants

4e ÉDITION

En préparation.

V. MORAX

Ophtalmologie

3e *édition*. 1 *vol. avec* 450 *figures et* 4 *planches en couleurs*.
Broché. . . . **34** fr. net; *cartonné*. . . . . **37** fr. net

J. DARIER
Médecin de l'hôpital Broca.

Dermatologie

3e *édition.* 1 *vol. avec figures*. . . . . *En réimpression.*

E. BRUMPT
Professeur de Parasitologie à la Faculté de Médecine de Paris.

Parasitologie

3e *édition.* 1 *vol. avec figures* . . . . . *En réimpression.*

Georges DIEULAFOY
Professeur à la Faculté de Paris,
Membre de l'Académie de Médecine.

Manuel de Pathologie interne

NOUVEAU TIRAGE CONFORME A LA SEIZIÈME ÉDITION

4 *vol. in*-16, *ensemble* 4300 *pages, avec figures en noir et en couleurs.*

Les 4 volumes. **70** fr. net

PRÉCIS DE TECHNIQUE

H. BULLIARD
Préparateur d'Histologie à la Faculté de Paris.

Ch. CHAMPY
Professeur agrégé à la Faculté de Paris.

Abrégé d'Histologie

VINGT LEÇONS AVEC NOTIONS DE TECHNIQUE

Préface du Professeur A. PRENANT

DEUXIÈME ÉDITION REMANIÉE

1 *vol. de* 334 *pages avec* 180 *fig. et* 6 *planches en couleurs.* **12** fr. net

G. ROUSSY
Professeur agrégé,
Chef des Travaux d'Anatomie pathologique
à la Faculté de Paris.

I. BERTRAND
Externe des Hôpitaux de Paris,
Moniteur des Travaux pratiques d'anatomie
pathologique.

Travaux pratiques d'Anatomie Pathologique

EN QUATORZE SÉANCES

— Préface du Professeur Pierre MARIE —

2ᵉ *édition*, 240 *pages*, 114 *figures* . . . . . **12** fr. net

Gustave ROUSSY
Professeur agrégé.
Chef des Travaux d'anatomie pathologique
à la Faculté de Paris.

Roger LEROUX
Moniteur des Travaux pratiques
d'Anatomie pathologique
à la Faculté de Paris.

Diagnostic des Tumeurs

TRAVAUX PRATIQUES
D'ANATOMIE PATHOLOGIQUE
2ᵉ SÉRIE

1 *vol. de* 352 *pages avec* 129 *figures*. . . . . **25** fr. net.

Christian CHAMPY
Professeur agrégé à la Faculté de Médecine de Paris.

Manuel d'Embryologie

1 *vol. de* 216 *pages avec* 200 *fig. originales et* 6 *pl. en coul.* **12** fr. net

COLLECTION DU MÉDECIN PRATICIEN

L'OBJET de cette collection : Dire au médecin traitant tout ce qu'il doit savoir d'une spécialité, lui indiquer les méthodes les meilleures de diagnostic ou de traitement — les lui décrire avec des détails assez minutieux pour lui permettre de les appliquer sans mécompte et le conduire ainsi jusqu'au seuil qu'il ne peut dépasser par ses propres moyens; — lui permettre d'autre part de guider le spécialiste dont il recherchera le concours et auquel il doit apporter un diagnostic précis; lui apprendre, enfin, à utiliser pour le traitement tous les renseignements que la consultation, le laboratoire ou l'opération lui auront fournis.

o o o

Dr GUY-LAROCHE

2e Édition

Examens de Laboratoire

du Médecin praticien

Avec Préface du Professeur CHAUFFARD

1 *vol. in*-8, *de* 415 *p.*, 117 *fig. et* 1 *pl. en couleurs rel. cart. souple*. . . . . **22** fr. **net.**

Gaston LYON

Ancien Chef de clinique médicale à la Faculté de Paris.

Consultations

pour les

Maladies des Voies digestives

1 *vol. de* 300 *pages*. . . . . **16** fr. **net.**

Dr Pierre RÉAL
Dentiste des Hôpitaux de Paris.

2e Édition

Stomatologie

du Médecin praticien

1 *vol. in*-8 *de* 290 *pages avec* 169 *fig. et* 4 *pl., rel. carton souple*. . . . . 15 fr. net.

G. LAURENS

4e Édition

Oto-Rhino-Laryngologie

du Médecin praticien

1 *vol. in*-8 *de* 468 *p. avec* 593 *fig., rel. carton souple*. 22 fr. net.

Dr Alb. TERSON
Ancien Chef de Clinique Ophtalmologique
à l'Hôtel-Dieu.

2e Édition

Ophtalmologie

du Médecin praticien

1 *vol. in*-8 *de* 550 *p. avec* 356 *fig*. . . . . 26 fr. net.

Dr LÉMANSKI

L'Art pratique de Formuler

5e *édition. 1 volume de 325 pages* . . . . . **15 fr. net**

Ouvrages du Docteur MARTINET

Les Aliments usuels

1 *vol. in-8 de 360 pages avec fig. Deuxième édition revue.* **5 fr. net**

Thérapeutique Usuelle des Maladies de la Nutrition

1 *vol. in-8 de 429 pages, en collaboration avec le Dr Legendre.* **6 fr. net**

Clinique hydrologique

1 *vol. in-8 de 646 pages* . . . . . **8 fr. net**

Les Agents physiques usuels

1 *vol. in-8 de 650 pages avec 170 fig. et 3 planches hors texte.* **9 fr. net**

J. BROUSSES

Ex-répétiteur de Pathologie chirurgicale
à l'École du Service de Santé militaire

Manuel technique de massage

4e *édition. 1 vol. de 386 p. avec 85 figures dans le texte.* **12 fr. net**

R. GOIFFON

Manuel de Coprologie Clinique

Préface par le Dr J.-Ch. ROUX

1 *vol. de 232 pages avec 36 fig. et deux planches en couleurs* . . . . . **12** fr. **net.**

Ch. ACHARD Professeur à la Faculté. **G.-M. DEBOVE** Doyen de la Fac. de Paris **J. CASTAIGNE** Professeur ag. à la Faculté.

Manuel des Maladies du Tube digestif

TOME I : *BOUCHE, PHARYNX, ŒSOPHAGE, ESTOMAC*

par G. PAISSEAU, F. RATHERY, J.-Ch. ROUX

1 *vol. grand in-8 de 725 pages avec figures dans le texte.* **15 fr. 50**

TOME II : *INTESTIN, PÉRITOINE, GLANDES SALIVAIRES, PANCRÉAS*

par M. LOEPER, Ch. ESMONET, X. GOURAUD, L.-G. SIMON, L. BOIDIN et F. RATHERY

1 *vol. grand in-8 de 810 pages avec 116 fig. dans le texte.* **15** fr. **50**

Manuel des Maladies de la Nutrition et Intoxications

par L. BABONNEIX, J. CASTAIGNE, Abel GY, F. RATHERY

1 *vol. grand in-8 de 1082 pages avec 118 fig. dans le texte.* **22 fr.**

MASSON ET Cie, ÉDITEURS

Robert HENRY — André DEMONCHY

Manuel d'Urétroscopie

Préface du Dr Marion
Professeur agrégé à la Faculté. Chirurgien de l'hôpital Lariboisière.

1 *vol. de* 116 *pages avec* 56 *figures dans le texte et* 30 *figures hors texte en couleurs* . . . . . **25 fr. net**

L. CHEINISSE
Chargé du « Mouvement Thérapeutique » dans la *Presse Médicale*,
Ancien Rédacteur de la Semaine Médicale.

L'Année Thérapeutique

ANNÉE 1920

1 *vol. de* 144 *pages*. . . . . **6 fr. net.**

DEBOVE — Doyen honoraire de la Faculté.
SALLARD — Ancien interne des Hôpitaux.
POUCHET — Prof. de Pharmacologie de Médecine

Aide-Mémoire de Thérapeutique

2e *édition*. 1 *vol. in*-8 *de* 912 *pages*. *Broché* . . . . . **18 fr. net**
Cartonné . . . . . **22 fr. net**

BALTHAZARD, CESTAN, CLAUDE, MACAIGNE, NICOLAS, VERGER

PRÉCIS DE PATHOLOGIE INTERNE

3e Édition **Tome IV**

Système Nerveux

Par MM. CESTAN et VERGER

1 *volume de* 916 *pages, avec* 113 *figures, cartonné*. . . . **28 fr. net**

Georges **GUILLAIN**
Professeur agrégé
à la Faculté de Médecine
de Paris.

J.-A. **BARRÉ**
Professeur de Neurologie
à la Faculté de Médecine
de Strasbourg.

Travaux Neurologiques de Guerre

1 *volume de* 462 *pages avec* 74 *figures*. . . . . **18 fr. net**

A.-C. **GUILLAUME**

Le Sympathique
et les Systèmes associés

Anatomie clinique, sémiologie et pathologie générale du système neuro-glandulaire de la vie organo-végétative

Préface du Professeur PIERRE MARIE

2e Édition complètement remaniée et très augmentée

1 *vol. in*-8 *de* 396 *pages avec* 40 *figures originales*. **18 fr. net.**

Mme ATHANASSIO-BENISTY
Ancien interne des Hôpitaux (Salpêtrière).

Les Lésions des Nerfs
Traitement et Restauration

1 vol. de 158 pages in-8, avec 66 figures. . . . . 7 fr. net

Dr Francis HECKEL

La Névrose d'Angoisse
et les Etats d'émotivité anxieuse

1 vol. gr. in-8 de 535 pages . . . . . 10 fr. net

Drs DEVAUX et LOGRE

Les Anxieux (Étude clinique)

1 vol. in-8 de 256 pages. . . . . 5 fr. net

Drs A. DOLÉRIS et J. BOUSCATEL

Néo-Malthusianisme
Maternité et Féminisme
Education sexuelle

1 vol. in-8 de 262 pages . . . . . 5 fr. 50 net

André BARBÉ
Médecin Aliéniste des Hôpitaux de Paris.

Examen des Aliénés

Préface de M. le Dr SÉGLAS
Médecin de la Salpêtrière.

1 *vol. de* 178 *pages* . . . . . 8 fr. net

COURTOIS-SUFFIT
Médecin des Hôpitaux.

René GIROUX
Interne Pr. des Hôpitaux.

La Cocaïne

Étude d'Hygiène sociale et de Médecine légale

1 *vol. in-8 de* 228 *pages* . . . . . 4 fr. 50 net

Dr Ch. SABOURIN

Traitement Rationnel de la Phtisie

6e *édition. Un volume de* 522 *pages* . . . . . 7 fr. net

F. BEZANÇON
Professeur agrégé à la Faculté de Paris.

S. I. DE JONG
Ancien chef de clin. à la Faculté de Paris.

Traité de l'examen des Crachats

1 *vol. in-8 de* 411 *pages avec* 8 *planches en couleurs* . . . 12 fr. net

Antoine FLORAND *Max FRANÇOIS* *Henri FLURIN*

Les Bronchites chroniques

1 *vol. in-8 de* 360 *pages* . . . . . 5 fr. net

Jules COMBY
Médecin de l'hôpital des Enfants-Malades.

Deux cents
Consultations médicales
Pour les Maladies des Enfants

6e édition. 1 *vol. in*-16, *cartonné* . . . . . **8 fr. net**

A. LESAGE
Médecin des Hôpitaux de Paris.

La Méningite Tuberculeuse
de l'Enfant

1 *vol. in*-8 *de* 194 *pages* . . . . . **5 fr. net**

A. B. MARFAN

Les Vomissements périodiques
avec Acétonémie

1 *brochure de* 63 *pages*. . . . . **4 fr. net**

E. LESNÉ *L. BINET*

Physiologie Normale et Pathologique
du Nourrisson

Préface de Charles RICHET

1 *vol. de* 297 *pages*. . . . . **18 fr. net**

Traité
des Maladies de l'Enfance

PUBLIÉ SOUS LA DIRECTION DE

J. GRANCHER — **Professeur à la Faculté de Médecine de Paris.**
J. COMBY — **Médecin de l'Hôpital des Enfants-Malades.**

DEUXIÈME ÉDITION, ENTIÈREMENT REFONDUE

5 forts volumes gr. in-8 *avec figures dans le texte*. . . . **130 fr. net**

H. GUILLEMINOT
Chef des travaux pratiques de physique biologique.

Manipulations de Physique biologique

1 *volume in*-16 *de* 272 *pages*, 242 *figures, cartonné*. . . . . **5 fr. net**

A. PRENANT
Professeur à la Faculté de Paris.

L. MAILLARD
Chef des trav. de Chim. biol. à la Faculté de Paris.

P. BOUIN
Professeur agrégé à la Faculté de Nancy

Traité d'Histologie

TOME I. — *CYTOLOGIE GÉNÉRALE ET SPÉCIALE*. (**Épuisé**).

TOME II. — *HISTOLOGIE ET ANATOMIE*. 1 *vol. gr. in*-8 *de* 1210 *pages avec* 572 *fig. dont* 31 *en couleurs* . . . . . **55 fr. net**

M. NICOLLE
de l'Institut Pasteur de Paris.

Les Antigènes et les Anticorps

Caractères généraux
Applications diagnostiques et thérapeutiques

1 *vol. in*-8 *de* 116 *pages*. . . . . **4 fr. 50 net**

Ch. BOUCHARD
Professeur honoraire de pathologie générale,
Membre de l'Académie des Sciences.

G.-H. ROGER
Professeur de pathologie expérimentale,
Membre de l'Académie de Médecine.

Nouveau Traité de Pathologie générale

TOME I. — 1 *vol. gr. in*-8 *de* 909 *pages, relié toile* . . . . **28 fr. net**

COLLABORATEURS DU TOME I : Ch. ACHARD, J. BERGONIÉ, P.-J. CADIOT et H. ROGER, P. COURMONT, M. DUVAL et P. MULON, A. IMBERT, J.-P. LANGLOIS, P. LE GENDRE, F. LEJARS, P. LENOIR, Th. NOGIER, H. ROGER, P. VUILLEMIN.

TOME II. — 1 *vol. gr. in*-8, *de* 1174 *pages*, 204 *fig. Relié toile.* **35 fr. net**

COLLABORATEURS DU TOME II : Fernand BEZANÇON, E. BODIN, Jules COURMONT, Jules GUIART, A. ROCHAIX, G.-H. ROGER, Pierre TEISSIER.

P.-J. MORAT
Professeur
à l'Université de Lyon.

Maurice DOYON
Professeur adjoint
à la Faculté de Médecine de Lyon.

Traité de Physiologie

TOME I. — **Fonctions élémentaires** . . . . . **18 fr. net**

TOME II. — **Fonctions d'innervation**, avec 263 figures. *Epuisé.*

TOME III. — **Fonctions de nutrition.** — Circul. — Calorif. **15 fr. net**

TOME IV. — **Fonctions de nutrition** (*suite et fin*). — Respiration, excrétion. — Digestion, absorption, avec 167 figures. . **15 fr. net**

TOME V ET DERNIER. — **Fonctions de relation et de reproduction**

1 *vol. gr. in*-8 *avec* 221 *figures en noir et en couleurs*. **28 fr. net**

Dr Georges ROBERT

Thérapeutique oculaire

1 *volume de* 168 *pages* . . . . . 6 fr. net

Dr DUVERGER

Professeur de clinique ophtalmologique
à la Faculté de Médecine de Strasbourg.

Anesthésie locale en ophtalmologie

1 *vol. de* 96 *pages avec* 19 *figures*. . . . . 6 fr. 50 net

AXENFELD

Traité d'Ophtalmologie

Traduction française du Dr MENIER

1 *vol. in-8 de* 790 *pages avec* 12 *planches en couleurs et* 549 *fig.* 40 fr. net

Th. HEIMAN

L'Oreille et ses maladies

2 *vol. in-8 de* 1462 *pages avec* 167 *figures* . . . . . 44 fr. net

Dr TERSON

Ophtalmologie
du Médecin praticien

2e *édition.* 1 *vol. de* 550 *pages avec* 356 *figures* (Collection du Médecin praticien) . . . . . 26 fr. net.

F. TERRIEN

Professeur agrégé de la Faculté de Médecine de Paris,
Ophtalmologiste de l'hôpital Beaujon.

Chirurgie de l'Œil
et de ses annexes

2e *édition.* 620 *pages*, 495 *figures* . . . . . 50 fr. net

MASSON ET Cie, ÉDITEURS

A. LAVERAN
Professeur à l'Institut Pasteur, Membre de l'Institut

Leishmanioses

Kala-Azar, Bouton d'Orient, Leishmaniose Américaine

1 *vol. in*-8 *de* 515 *pages*, 40 *figures*, 6 *planches hors texte en noir et en couleurs* . . . . . **16 fr. 50 net**

A. LAVERAN
Membre de l'Institut.

F. MESNIL
Professeur à l'Institut Pasteur.

Trypanosomes et Trypanosomiases

2e *édition*, 1 *vol. gr. in*-8 *de* 1008 *pages avec* 198 *figures*. **27 fr. 50 net**

R. SABOURAUD
Directeur du Laboratoire Municipal à l'Hôpital Saint-Louis.

Maladies du Cuir Chevelu

TOME I. — *Maladies séborrhéiques*, 1 *vol. gr. in*-8 . . . . **15 fr. net**
TOME II. — *Maladies desquamatives*. 1 *vol. gr. in*-8 . . . (*épuisé*).
TOME III. — *Maladies cryptogamiques*. 1 *vol. gr. in*-8. . **35 fr. net**

La Pratique Dermatologique

PUBLIÉ SOUS
la Direction de MM. Ernest BESNIER, L. BROCQ et L. JACQUET

4 *vol., reliés toile*. . . **200** fr. — *Chaque tome séparément*. **50 fr. net**

P. POIRIER — A. CHARPY

Traité d'Anatomie Humaine

NOUVELLE ÉDITION, ENTIÈREMENT REFONDUE PAR

A. CHARPY et A. NICOLAS

Professeur d'Anatomie à la Faculté de Médecine de Toulouse. Professeur d'Anatomie à la Faculté de Médecine de Paris.

O. AMOEDO, ARGAUD, A. BRANCA, R. COLLIN, B. CUNÉO, G. DELAMARE, Paul DELBET, DIEULAFE, A. DRUAULT, P. FREDET, GLANTENAY, A. GOSSET, M. GUIBÉ, P. JACQUES, Th. JONNESCO, E. LAGUESSE, L. MANOUVRIER, P. NOBÉCOURT, O. PASTEAU, M. PICOU, A. PRENANT, H. RIEFFEL, ROUVIÈRE, Ch. SIMON, A. SOULIÉ, B. de VRIESE WEBER.

TOME I. — **Introduction. Notions d'embryologie. Ostéologie. Arthrologie,** 825 *figures* (3e *édition*) . . . . . *Épuisé.*

TOME II. — 1er Fasc. : **Myologie. — Embryologie. Histologie. Peauciers et aponévroses,** 351 *figures* (3e *édition*) **17** fr. **net**

2e Fasc. : **Angéiologie** (Cœur et Artères), 248 *fig.* (3e *éd.*) **15** fr. **net**

3e Fasc. : **Angéiologie** (Capillaires, Veines), (3e *éd.*). **22** fr. **net**

4e Fasc. : **Les Lymphatiques,** 126 *figures* (2e *édition*) *Épuisé.*

TOME III. — 1er et 2e Fasc. **Système nerveux** (Méninges. Moelle. Encéphale), 470 figures (3e *édition*) . . . . . **75** fr. **net**

3e Fasc. : **Système nerveux** (Nerfs. Nerfs craniens et rachidiens), 228 *figures* (3e *édition*) . . . . . (*en préparation*).

TOME IV. — 1er Fasc. : **Tube digestif,** 213 *fig.* (3e *édit.*). **15** fr. **net**

2e Fasc. : **Appareil respiratoire,** 121 *figures* (2e *édit.*) *Épuisé.*

TOME V. — 1er Fasc. : **Organes génito-urinaires,** 431 *figures* (3e *édition*). (*en préparation*).

2e Fasc. : **Organes des sens** (3e *édition*). . . . . **32** fr. **net**

3e Fasc. : **Annexes du tube digestif. Péritoine.** 462 figures (3e *édition*). . . . . **22** fr. **net**

L. H. FARABEUF
Professeur à la Faculté de Médecine de Paris.

Précis de Manuel Opératoire

1 *vol. in-8 de* 1092 *pages avec* 862 *figures*. . . . . **26 fr. net**

Auguste BROCA
Professeur à la Faculté de Médecine de Paris.

Chirurgie de Guerre et d'après Guerre

1 *volume de* 480 *pages avec* 545 *figures dans le texte*. . **25 fr. net**

G. LARDENNOIS
Chirurgien des Hôpitaux.

J. BAUMEL
Chef de clinique.

Les Infections gangreneuses des membres consécutives aux blessures de guerre

1 *volume de* 248 *pages avec* 26 *figures*. . . . . **12 fr. net**

J. FIOLLE et J. DELMAS

Découverte des Vaisseaux profonds par des voies d'accès larges

Avec Préface de M. Pierre DUVAL

1 *vol. in-8 de* 128 *pages et figures de M. H. Beaufour. Prix.* **6 fr.**

Professeur Th. JONNESCO
Membre correspondant de l'Académie de Médecine de Paris.

La Rachianesthésie Générale

1 *vol. de* 128 *pages* . . . . . **4 fr. net**

Précis de
Technique Opératoire

PAR LES PROSECTEURS DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Pratique courante et Chirurgie d'urgence, par V. VEAU. 6e *édit.* 331 *fig.* — *Br.* 6 *fr. Cart.* 7 *fr.* 50

Tête et cou, par CH. LENORMANT. 5e *édition*, 247 *fig.* — *Br.* 6 *fr. Cart.* 7 *fr.* 50

Thorax et membre supérieur, par A. SCHWARTZ. 4e *édition*, 199 *fig.* — *Br.* 6 *fr. Cart.* 7 *fr.* 50

Abdomen, par M. GUIBÉ. 5e *édition*, 242 *fig.* — *Br.* 10 *fr. Cart.* 12 *fr.* 50

Appareil urinaire et appareil génit. de l'homme, par P. DUVAL. 4e *édit.*, 234 *fig.* — *Br.* 6 *fr. Cart.* 7 *fr.* 50

Appareil génital de la femme, par R. PROUST. 5e *édition*, revisée par le Dr CHARRIER, prosecteur à la Faculté de Médecine de Paris. (*sous presse*).

Membre inférieur, par GEORGES LABEY. 4e *édition*, 241 *fig.* — *Br.* 6 *fr. Cart.* 7 *fr.* 50

Th. TUFFIER
Professeur agrégé
à la Faculté de Médecine de Paris.

P. DESFOSSES
Chirurgien
de l'hôpital Britannique à Paris.

Petite Chirurgie pratique

6e édition revue et augmentée. 1 vol. de 732 pages avec 425 figures dans le texte. . . . . . 32 fr. net

OUVRAGES DE H. HARTMANN

Professeur de Clinique à la Faculté de Paris.

Gynécologie opératoire

1 *vol. gr. in-8 de* 500 *pages*, 422 *fig. dont* 80 *en couleurs, cart.* **22 fr. net**

Organes génito-urinaires de l'homme

1 *vol. gr. in-8 de* 432 *pages avec* 412 *figures*. . . . . **16 fr. 50 net**

Travaux de Chirurgie anatomo-clinique

1re Série : **Voies urinaires. Estomac,** avec B. Cunéo, Delaage, P. Lecène, Leroy, G. Luys, Prat, G.-H. Roger, Soupault.
épuisé

2e Série : **Voies urinaires. — Testicule,** avec la collaboration de B. Cunéo, Esmonet, Lavenant, Lebreton et P. Lecène.
16 fr. 50 net

3e Série : **Chirurgie de l'Intestin,** avec la collaboration de Lecène et J. Okinczyc . . . . . **17 fr. 50 net**

4e Série : **Voies urinaires,** avec la collaboration de B. Cunéo, Delamare, V. Henry, Küss, Lebreton et P. Lecène. **17 fr. 50 net**

FARABEUF et VARNIER

Professeur à la Faculté de médecine de Paris. — Professeur agrégé à la Faculté.

Introduction à la Pratique des Accouchements

4e *édit.* 1 *vol. de* 488 *pages*, 375 *fig. Br*. . . . . **20 fr. net**
Cart. . . . . **24 fr. net**

V. WALLICH
Professeur agrégé à la Faculté de Paris.

Eléments d'Obstétrique

4e édition refondue, 1 volume de 709 pages avec 180 figures dans le texte. . . . . . **26** fr. net

A. RIBEMONT-DESSAIGNES
Professeur à la Faculté de Paris.

G. LEPAGE
Professeur agr. à la Faculté de Paris

Traité d'Obstétrique

8e édition. 1574 pages avec 587 figures. Relié toile. . **40** fr. net
Relié en deux volumes. . . **44** fr.

COUVELAIRE
Professeur de Clinique obstétricale à la Faculté de Paris.

Chirurgie utérine obstétricale

1 vol. in-4 de 224 pages avec 44 planches hors texte, cart. **36** fr. net

VARNIER
Professeur à la Faculté. Accoucheur des hôpitaux.

La Pratique des Accouchements
Obstétrique journalière

1 vol. in-8 de 440 pages avec 386 figures, relié. . . . . . **29** fr. net

Aug. BROCA
Professeur d'opérations et d'appareils à la Faculté de Paris.

Chirurgie Infantile

1 *vol. in-8 jésus de* 1136 *pages avec* 1259 *figures, cartonné* **32** fr. net

L. OMBRÉDANNE
Professeur agrégé à la Faculté de Médecine de Paris,
Chirurgien de l'Hôpital Bretonneau.

Technique Chirurgicale Infantile

1 *vol. in-8 de* 342 *pages avec* 210 *figures* . . . . . **8** fr. net

Léon BÉRARD
Professeur de clinique chirurgicale.

Paul VIGNARD
Chirurgien de la Charité (Lyon).

L'Appendicite
Étude clinique et critique

1 *vol. gr. in-8 de* 888 *pages avec* 158 *figures dans le texte.* **20** fr. net

Traité Médico-Chirurgical
des
Maladies de l'Estomac et de l'Œsophage

PAR MM.

A. MATHIEU
Médecin de l'Hôpital St-Antoine.

L. SENCERT
Professeur ag. à la Faculté de Nancy.

Th. TUFFIER
Professeur ag., Chirurgien des Hôpitaux.

AVEC LA COLLABORATION DE :

T. CH.-ROUX | *ROUX-BERGER* | *F. MOUTIER*

1 *vol. gr. in-8 de* 934 *pages avec* 300 *figures dans le texte.* **25** fr. net

F. JAUGEAS
Assistant de radiothérapie à l'Hôpital Saint-Antoine

Précis de Radiodiagnostic

Technique et Clinique

DEUXIÈME ÉDITION REVUE ET AUGMENTÉE

1 *vol. de* 550 *pages*, 220 *figures et* 63 *planches hors texte*. . **24** fr. net

H. PILON

Le Tube Coolidge

Ses Applications scientifiques médicales et industrielles

1 *volume in*-8 *de* 86 *pages avec* 58 *figures dans le texte*. . **4** fr. **50** net

Dr ARCELIN
Chef de service de Radiologie à l'Hôpital Saint-Joseph
et à l'Hôpital Saint-Luc.

L'Exploration radiologique des Voies Urinaires

1 *vol. gr. in*-8 *de* 175 *pages avec fig. et* 6 *planches hors texte*.. **8** fr. net

MASSON ET Cie, ÉDITEURS

M. LERMOYEZ
Membre de l'Académie de Médecine, Médecin des Hôpitaux de Paris.

Notions pratiques d'Electricité

1 *vol. de* 876 *pages*, 426 *fig. Broché* **20** fr. net. *Cart.* **24** fr. net.

Rémy PERRIER
Professeur adjoint à la Faculté des Sciences de l'Université de Paris.

Cours Elémentaire de Zoologie

1 *vol. de* 871 *pages, avec* 765 *fig. dans le texte et* 16 *planches.* **30** fr. net

William C. Mac LEWIS
Professeur de Chimie physique à l'Université de Liverpool.

Traité de Chimie Physique

Traduit sur la 2e édition anglaise par H. VIGNERON.

Tome I. — **Théorie cinétique.** — 1 *volume in-8.* . **40** fr. net
Tome II. — **Thermodynamique.** — *1 volume.* . . . **40** fr. net
Tome III. — **Théories modernes. — Théorie des Quanta.** . . . . . **20** fr. net

Vittorio VILLAVECCHIA

Traité de Chimie analytique appliquée

Méthodes et Règles pour l'examen chimique des principaux produits industriels et alimentaires.

Traduit en français et annoté par Paul NICOLARDOT.

Les Tomes I et II (dernier) réunis . . . . . **80** fr. net

Le Tome I ne se vend pas séparément.

Tome II. . . . . **56** fr. net

87017. — IMP. LAHURE.

YB 79633